

**ZUR KÜNSTLICHEN BESAMUNG UND
IN VITRO-FERTILISATION
BEI DER KATZE**

Karen Lürssen

München 1986

Aus der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Lehrstuhl: Prof. Dr. W. Leidl

ZUR
KÜNSTLICHEN BESAMUNG UND IN VITRO-FERTILISATION
BEI DER KATZE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Karen Lürssen
aus
Bremen

München 1986

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Zucker

Referent: Prof. Dr. W. Leidl

Korreferent: Prof. Dr. H. K. Dennig

Tag der Promotion: 25. Juli 1986

1.	EINLEITUNG	1
2.	LITERATUR	2
2.1	Physiologische Daten der Fortpflanzung	2
2.1.1	Wachstum und Geschlechtsreife der Katze	2
2.1.2	Wachstum und Geschlechtsreife des Katers	3
2.1.3	Oogenese, Fertilisation und Nidation	3
2.1.4	Der Einfluß der Jahreszeiten auf die Fortpflanzung	4
2.1.5	Der Zyklus der Katze	5
2.1.5.1	Die Follikelphase	5
2.1.5.2	Die Ovulation	6
2.1.5.3	Der Zyklusverlauf bei anovulatorischem Östrus	7
2.1.5.4	Der Zyklusverlauf nach Pseudogravidität	7
2.1.5.5	Der Zyklusverlauf nach Gravidität	8
2.2	Eingriffe in das Reproduktionsgeschehen	11
2.2.1	Einfluß der Lichtverhältnisse	11
2.2.2	Unterdrückung und Induktion des Östrus durch hormonelle Behandlung	11
2.3	Spermagewinnung, -beschaffenheit und -konservierung	13
2.3.1	Spermagewinnung	13
2.3.1.1	Spermagewinnung nach Konditionierung des Katers	13
2.3.1.2	Spermagewinnung durch Elektroejakulation	14
2.3.2	Spermabeschaffenheit	15
2.3.2.1	Volumen	15
2.3.2.2	Spermienzahl	15
2.3.2.3	Motilität	16
2.3.2.4	Morphologie	16
2.3.2.5	Andere Parameter	16
2.3.3	Spermakonservierung	17

2.4	Insemination	18
2.4.1	Zyklusdiagnose	18
2.4.1.1	Vaginalzytologie	18
2.4.1.2	Verhaltensbeobachtung	19
2.4.2	Ausführung der Insemination	19
2.4.2.1	Ovulationsauslösung	20
2.4.2.2	Besamungsergebnisse	20
2.5	In vitro-Fertilisation von Oozyten der Katze	22
2.6	Embryotransfer	23
3.	EIGENE VERSUCHE	24
3.1	Material und Methoden	24
3.1.1	Haltung und Fütterung der Katzen	24
3.1.1.1	Kater	24
3.1.1.2	Katzen	25
3.1.2	Spermagewinnung	25
3.1.2.1	Konditionierung der Kater	25
3.1.2.2	Technischer Ablauf der Spermagewinnung	25
3.1.3	Spermauntersuchung	26
3.1.4	Spermakonservierung	27
3.1.4.1	Flüssigsperma-Konservierung	27
3.1.4.2	Tiefgefrierkonservierung nach PLATZ et al. (1978)	27
3.1.4.3	Tiefgefrierkonservierung nach SCHLESINGER-PLATH (1984)	28
3.1.4.4	Tiefgefrierkonservierung modifiziert nach SCHLESINGER-PLATH	28
3.1.4.5	Verdünnern und Auftaulösung	29

3.1.5	Künstliche Besamung	31
3.1.5.1	Zyklusdiagnose	31
3.1.5.2	Vorbereitung der Insemination	31
3.1.5.3	Technik der Insemination	32
3.1.6	In vitro-Reifung und -Fertilisation follikulärer Oozyten der Katze	32
3.1.6.1	Vorbereitung der Versuche	32
3.1.6.2	Gewinnung der Eizellen	33
3.1.6.3	Fixierung und Färbung der Eizellen zur Beurteilung des chromosomalen Status	33
3.1.6.4	Versuche zur In vitro-Reifung	34
3.1.6.5	Versuche zur In vitro-Fertilisation	34
3.2	Ergebnisse	36
3.2.1	Konditionierung der Kater	36
3.2.2	Spermabeschaffenheit	37
3.2.3	Tiefgefrierkonservierung	38
3.2.4	Inseminationen	43
3.2.5	Ovulationsauslösung	43
3.2.6	In vitro-Reifung und -Fertilisation follikulärer Oozyten	47
3.2.6.1	Eizellgewinnung	47
3.2.6.2	In vitro-Reifung	47
3.2.6.3	In vitro-Fertilisation	48
4.	DISKUSSION	53
5.	ZUSAMMENFASSUNG	60
6.	SUMMARY	62
7.	LITERATURVERZEICHNIS	64



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554815_0090

1. EINLEITUNG

Eingriffe in die Reproduktion der Katze beschränken sich weitgehend auf eine Unterbindung der Fortpflanzungsaktivität. Nur in wenigen Bereichen wie der Rassekatzenzucht, dem Artenschutz und der Versuchstierhaltung besteht das Interesse, mit biotechnischen Maßnahmen die Reproduktion zu steuern. Bisherige Untersuchungen befassen sich insbesondere mit der Gewinnung und Untersuchung von Sperma sowie der künstlichen Besamung. In der vorliegenden Arbeit sollten zum einen verschiedene Verfahren zur Konservierung von Katersperma überprüft und Inseminationen von Katzen mit Tiefgefriersperma durchgeführt werden. Zum anderen befaßten sich weitere Versuche mit der In vitro-Reifung und -Fertilisation follikulärer Oozyten der Katze. Neben der grundlegenden Bedeutung eines derartigen Verfahrens für Studien zur Befruchtung und frühembryonalen Entwicklung ließe sich diese Methode vielleicht im Sinne eines Penetrationstestes einsetzen, um das Befruchtungsvermögen von Samenproben zu überprüfen.

Da follikuläre Oozyten aus den bei Kastrationen von Katzen anfallenden Ovarien gewonnen werden können, wäre die Entwicklung eines In vitro-Systems auch unter Aspekten des Tierschutzes von Interesse.

2. LITERATUR

2.1 Physiologische Daten der Fortpflanzung

2.1.1 Wachstum und Geschlechtsreife der Katze

Katzen werden im Alter von 4 - 21 Monaten geschlechtsreif (JOHNSTON, 1984). Entscheidend für das Auftreten des ersten Östrus, Rolligkeit oder Raunze genannt, sind körperliche Entwicklung, Saison, Haltungsbedingungen und Rasse. SCOTT (1970) nennt ein Körpergewicht von 2,3 - 2,5 kg als Voraussetzung der Geschlechtsreife. Erreicht die Katze dieses Gewicht während der anöstrischen Zeit von Oktober bis Dezember, wird der Zyklus erst in der darauffolgenden Fortpflanzungssaison beginnen. Der Kontakt zu Katern oder Katzen im Östrus kann über die Wirkung von Pheromonen das Eintreten der Pubertät beschleunigen. In den Duftstoffen, die ein Kater beim Markieren seines Reviers abgibt, sind Östrusauslösende Substanzen enthalten. Die gleiche Wirkung hat Valeriansäure, die im Vaginalsekret rolliger Katzen vorkommt (BEAVER, 1977; CHRISTIANSEN, 1984). Während Hauskatzen und kurzhaarige Rassen im allgemeinen mit 4 - 9 Monaten zum ersten Mal rollig werden, ist dies bei Persern und Color-Points in der Regel erst mit 1 - 1,5 Jahren der Fall (JEMMET und EVANS, 1977; JOHNSTON, 1977).

Katzen bleiben über 14 Jahre fortpflanzungsfähig (SCOTT, 1970). Die beste Zeit für den Zuchteinsatz ist im Alter von 1 - 8 Jahren gegeben. Danach ist mit einer geringeren Wurfgröße und einer erhöhten Rate an totgeborenen Welpen zu rechnen (COLBY, 1980a).

2.1.2 Wachstum und Geschlechtsreife des Katers

Die Hoden befinden sich zum Zeitpunkt der Geburt bereits im Skrotum. (SCOTT, 1970). Bis zur Geschlechtsreife sind sie jedoch im Leistenkanal frei beweglich (SOJKA, 1980a). Erste Zellteilungen der Spermatogenese beginnen im Alter von 20 Wochen. Verhaltensweisen des geschlechtsreifen Katers, wie Nackenbiß, Bespringen anderer Tiere und Spritzharnen, können schon vor diesem Zeitpunkt beobachtet werden (BEAVER, 1977; JOHNSTON, 1984). Ab der 30. bis 36. Woche erscheinen Spermien in den Tubuli seminiferi (SCOTT, 1970). Die Angaben für das Erreichen der Geschlechtsreife variieren von 8 - 10 bis 9 - 12 Monaten (BEAVER, 1977; SOJKA, 1980a). Beim Kater sind diese Vorgänge nicht rasseabhängig, sondern werden durch Ernährung und Allgemeinzustand beeinflusst. Nach SCOTT (1970) sind Kater erst bei einem Mindestgewicht von 3,5 kg fertil, während SOJKA (1980a) 2,5 kg angibt. Die Fortpflanzungsfähigkeit des Katers bleibt wie beim weiblichen Tier über ca. 14 Jahre erhalten. Zur Zucht sollte er jedoch nicht länger als 4 - 6 Jahre eingesetzt werden (SCOTT, 1970). Beim Kater scheint eine altersbedingte Atrophie der Hoden ab dem 12. Lebensjahr häufig zu sein (STEIN, 1975).

2.1.3 Oogenese, Fertilisation und Nidation

Während der Embryonalzeit wandern Urkeimzellen in die Keimleiste ein und entwickeln sich dort zu Oogonien. In der darauffolgenden Vermehrungsphase, die vom 33. Tag post coitum bis kurz nach der Geburt dauert, finden mitotische Zellteilungen der Oogonien statt (AMSELGRUBER, 1982). 40 - 50 Tage post coitum beginnen die Oogonien in die erste Reifeteilung der Meiose einzutreten und werden nun als Oozyten bezeichnet (Von WINIWARTER und SAINMONT, 1909). Die Meiose läuft zunächst nur bis zum Ende der Prophase, dem Diplotän, ab. Bis zum Beginn der Pubertät bleiben die Oozyten in diesem Stadium.

Kennzeichen des Diplotän, auch Germinal Vesicle-Stadium genannt, ist ein großer runder Kern mit verteiltem Chromatin. Erst unter dem Einfluß der gonadotropen Hormone wird die Meiose fortgesetzt. Kurz vor der Ovulation ist die 1. Reifeteilung abgeschlossen, und die Eizelle befindet sich in der Metaphase II. Die Ovulation erfolgt erst 24 - 27 Stunden post coitum. In dieser Zeit findet die Kapazitation der Spermien statt. Sie müssen mindestens zwei Stunden im Uterus verbleiben, um die Befruchtungsfähigkeit zu erlangen (HAMNER et al., 1970). Während der im Eileiter erfolgenden Fertilisation wird die 2. Reifeteilung beendet (SCHUETZ, 1974). Am dritten Tag post coitum hat sich eine befruchtete Eizelle zum 8 - Zellstadium entwickelt, am 4. - 5. Tag erreicht sie den Uterus und ist um den 14. Tag implantiert (SCOTT, 1970; HERRON und SIS, 1974; BURKE, 1976).

2.1.4 Der Einfluß der Jahreszeiten auf die Fortpflanzung

Die Katze gehört zu den saisonal polyöstrischen Tieren. Der Ablauf des Sexualzyklus wird durch die Tageslichtdauer beeinflusst. In nördlichen Breiten beginnt die Fortpflanzungssaison im Januar und endet im September. Die Zeit der sexuellen Inaktivität, die als Anöstrus bezeichnet wird, dauert von Oktober bis Dezember (SCOTT und LLOYD-JACOB, 1959; RÜSSE, 1983). Einige Autoren unterteilen die Fortpflanzungssaison in drei Phasen (COLBY, 1980a). Nach STEIN (1975) wird der Zyklus jeweils zum Beginn des Frühjahres, im Frühsommer und im frühen Herbst aktiviert. STRASSER et al. (1971) beobachteten dagegen, daß von Januar bis Juli mehrere Brunstzyklen, meist 5 - 7, ablaufen. Eine Zyklusruhe während dieser Zeit konnten sie nicht feststellen. Leben Katzen während des ganzen Jahres unter gleichbleibenden Lichtverhältnissen, kann die Zeit des Anöstrus entfallen. Nach JOHNSTON (1984) werden in der Wohnung gehaltene Katzen während des ganzen Jahres alle 18 - 35 Tage rollig. Ähnliches beobachteten WILDT et al. (1978a) an Katzen, die in Koloniehaltung ständig bei einer Beleuchtungsdauer von 12 Stunden lebten.

Auch in der Gegend des Äquators, bei natürlicher Tag- und Nachtgleiche, kommt es nicht zu einer Unterbrechung der Fortpflanzungssaison (HURNI, 1981). JEMMET und EVANS (1977) vermuten einen Einfluß der Rasse auf die Saisonalität. In einer Untersuchung an 168 Rassekatzen stellten sie fest, daß 90 % der Langhaarkatzen, jedoch nur 39,2 % der kurzhaarigen Rassen, eine anöstrische Phase durchliefen.

Kater sind während des ganzen Jahres paarungsbereit (COLBY und STEIN, 1983). In Ejakulaten, die regelmäßig durch Elektroejakulation gewonnen wurden, ließen sich jedoch eine deutliche Steigerung der Spermiendichte und eine leichte Zunahme des Volumens während der Paarungssaison nachweisen (JOHNSTONE, 1984). Untersuchungen von ARONSON und COOPER (1966) ergaben, daß die sexuelle Aktivität des Katers im Herbst reduziert ist und erst zum Beginn des Winters in vollem Umfang wiedererlangt wird. Nach Beobachtungen von LEYHAUSEN (1979) sind die Paarungsbereitschaft und das Spritzharnen in der Fortpflanzungssaison am stärksten ausgeprägt.

2.1.5 Der Zyklus der Katze

2.1.5.1 Die Follikelphase

Die Fortpflanzungssaison der Kätzin beginnt mit dem Proöstrus und nachfolgendem Östrus. Proöstrus und Östrus werden auch als Follikelphase zusammengefaßt, die durch Östradiol - 17 β - Werte im peripheren Blut über 20 pg/ml gekennzeichnet ist. Die Konzentration des Östradiol - 17 β steigt am Beginn der Follikelphase auf über 20 pg/ml an und erreicht während des Östrus ein Maximum von 50 - 70 pg/ml (SHILLE et al., 1979a, NETT und OLSON, 1983). Der Proöstrus dauert 1 - 3 Tage. In dieser Zeit ist die Katze anschliefssamer, reibt Kopf und Flanken an Gegenständen und wälzt sich wiederholt. Annäherungsversuche eines Katers werden jedoch entschieden abgewehrt. Kennzeichnend für die Duldungsbereitschaft im darauffolgenden Östrus ist die Einnahme der Begattungsstellung. Das Becken wird angehoben, während die Vordergliedmaßen flach am Boden liegen und die Hinterbeine auf und ab treten.

Jetzt wird auch die Bedeckung durch einen Kater geduldet (MICHAEL, 1961; VOITH, 1980). An dieser Stelle sei auf die Arbeit von SCHLESINGER-PLATH (1984) verwiesen, die ausführlich das Sexualverhalten von Kater und Katze beschreibt.

Die Ovulation erfolgt bei der Katze nicht spontan, sondern wird unter natürlichen Verhältnissen durch den Deckakt induziert. Auslösender Faktor scheint die mechanische Stimulierung der Zervix zu sein. Deshalb ist es möglich, artifiziell durch Einführen einer Pipette in die Vagina ebenfalls die Ovulation auszulösen. Darüber hinaus kann dies auch durch Applikation von Hormonen bewirkt werden (GREULICH, 1934; SHILLE et al., 1979b; SHILLE et al., 1983). Die Angaben über die Länge des Östrus variieren von 4 - 14 Tagen. Bei Bedeckung durch einen Kater mit nachfolgender Ovulation soll die Rolligkeit 4 - 6 Tage dauern. Anderenfalls halten die Östruserscheinungen 10 - 14 Tage an (BEAVER, 1977; HERRON, 1977a; COLBY, 1980a; RÜSSE, 1983). Nach Untersuchung anderer Autoren an 168 Zyklen von 39 Katzen betrug die Östrusdauer mit Kopulation und nachfolgender Ovulation $8,6 \pm 4,1$ Tage, mit Kopulation, aber ohne Ovulation $8,3 \pm 4,3$ Tage und ohne Bedeckung und Ovulation $6,2 \pm 2,9$ Tage (SHILLE et al., 1979a). Auch WILDT et al. (1978a) beobachteten, daß der Follikelsprung keinen Einfluß auf die Dauer der Rolligkeit hatte. Beide Untersuchungen wurden an Katzen durchgeführt, die unter Laborbedingungen gehalten wurden.

2.1.5.2 Die Ovulation

Während die meisten Haustiere spontan ovulieren, wird der Follikelsprung bei der Katze durch den Deckakt ausgelöst. Über einen neuro-hormonalen Reflex kommt es zur Abgabe von GnRH aus dem Hypothalamus, das im HVL zur Freisetzung von LH führt. Bereits wenige Minuten post coitum läßt sich die Ausschüttung von LH nachweisen, während die Ovulation erst nach 24 - 32 Stunden erfolgt (SHILLE et al., 1983). Die Höhe des LH-Spiegels ist abhängig zum einem von der Häufigkeit der Kopulationen, zum anderen von der vorherigen Beeinflussung des Hypothalamus und der Hypophyse durch erhöhte Östradiol - 17 β - Werte im Plasma. Nach einer einzigen Begattung ist der LH-Anstieg nicht immer ausreichend, um zur

Ovulation zu führen. Häufigeres Decken bewirkt einen höheren und längeren LH-Gipfel (CONCANNON et al., 1980; WILDT et al., 1980; JOHNSON und CAY, 1981).

CHAKRABORTY et al. (1979) stellten fest, daß eine Injektion von LH-RH bei rolligen Katzen zu wesentlich höheren LH-Konzentrationen führte als bei anöstrischen Tieren. HUNTER BANKS und STABENFELDT (1982) ließen Katzen während des Östrus zweimal täglich decken. Der maximale LH-Anstieg, der die Ovulation auslöste, war in Verbindung mit der höchsten Östradiol - 17 β - Konzentration im Plasma zu vermerken und konnte am 1., 2., 3. und 4. Tag des Östrus auftreten. An den vorhergehenden oder nachfolgenden Tagen stiegen die LH-Konzentrationen nach dem Koitus nur geringfügig an.

Der weitere Zyklusverlauf der Katze ist abhängig davon, ob während des Östrus eine Ovulation bzw. eine Konzeption erfolgte (Abb. 1).

2.1.5.3 Der Zyklusverlauf bei anovulatorischem Östrus

Die Graaf'schen Follikel atrophieren, wenn während der Rolligkeit keine Ovulation ausgelöst wurde. Die Konzentration des Östradiol - 17 β im Plasma fällt und bleibt bis zum Beginn des nächsten Proöstrus unter 20 pg/ml. Die Länge des Anöstrus wird mit 4 - 22 Tagen angegeben, in der Mehrzahl der Fälle dauert er 10 - 14 Tage (VERHAGE et al., 1976; SHILLE et al., 1979a; WILDT et al., 1981).

2.1.5.4 Der Zyklusverlauf nach Pseudogravidität

Nach der Bedeckung durch einen vasektomierten Kater bzw. der medikamentellen Ovulationsauslösung kommt es zur Bildung von Corpora lutea. Gleichzeitig steigt die Konzentration von Progesteron im peripheren Blut über 1 ng/ml. 16 - 20 Tage post ovulationem werden Maximalwerte von über 25 ng/ml erreicht. Die Rückbildung der Gelbkörper beginnt am 21. Tag. Gekennzeichnet ist sie durch das Absinken der Progesteron-Konzentration, die um den 40. Tag wieder unter 1 ng/ml liegt (Abb. 2). Etwa eine Woche nach Abklingen des Progesteron-Einflusses kann die nächste Rolligkeit eintreten (PAAPE et al., 1975; JOHNSTON, 1984). Die

Phase der aktiven Corpora lutea wird von manchen Autoren als Pseudogravidität bezeichnet (COLBY und STEIN, 1983; RÜSSE, 1983), andere ziehen die Definition Diöstrus vor (LÖFSTEDT, 1982; JOHNSTON, 1984). Bemerkenswert ist, daß die Deckbereitschaft der Katze auch nach stattgefundener Ovulation noch über einige Tage erhalten bleiben kann, während die Progesteron-Konzentration rapid ansteigt (PAAPE et al., 1975; STABENFELDT und SHILLE, 1977; SHILLE et al., 1979a).

2.1.5.5 Der Zyklusverlauf nach Gravidität

Die Gravidität dauert vom Tag der Paarung an zwischen 58 und 69 Tagen, im Durchschnitt 60 - 63. Wie im Diöstrus steigt die Progesteron-Konzentration zunächst an, erreicht aber mit 30 ng/ml höhere Maximalwerte und fällt dann langsamer ab. Erst kurz nach der Geburt sinkt die Konzentration unter 1 ng/ml (Abb. 2). Ab dem 45. - 50. Tag der Gravidität wird auch in der Plazenta Progesteron produziert. Eine Ovariektomie ab diesem Zeitpunkt führt nicht mehr zum Abort (RÜSSE und KOCKS, 1979; COLBY und STEIN, 1983; OLSON et al., 1984). Die Östradiol - 17 β - Werte liegen zunächst unter 20 pg/ml, um dann gegen Ende der Gravidität wieder anzusteigen (VERHAGE et al., 1976; SCHMIDT et al., 1983). Bei etwa 10 % der Katzen können um den 21. oder 42. Tag der Trächtigkeit Östruserscheinungen beobachtet werden (SCOTT, 1970; VOITH, 1980; SCHLESINGER-PLATH, 1984). SCHMIDT et al. (1983) bringen dieses Phänomen in Verbindung mit der von ihnen nachgewiesenen Bildung akzessorischer Gelbkörper während der Gravidität. Auch die bei Katzen relativ häufig auftretenden Fälle von Superfetatio dürften darauf zurückzuführen sein (STEIN, 1975). Im allgemeinen ist 2 - 4 Wochen nach dem Absetzen der Welpen mit dem Wiedereinsetzen des Östrus zu rechnen. In seltenen Fällen wird die Katze bereits in der ersten Woche post partum wieder rollig (COLBY und STEIN, 1983; RÜSSE, 1983).

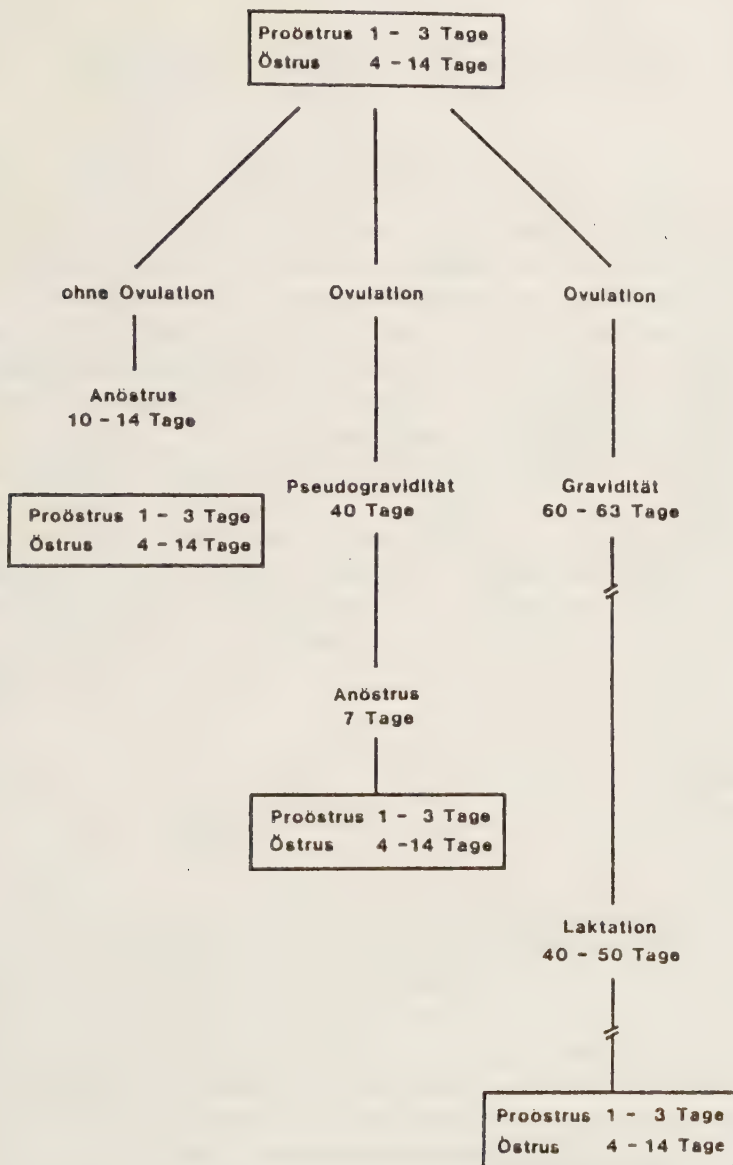


Abb. 1: Der Zyklusverlauf der Katze



Abb. 2: Konzentration von Progesteron und Östradiol bei graviden und pseudograviden Katzen (nach CHRISTIANSEN, 1984).

2.2 Eingriffe in das Reproduktionsgeschehen

2.2.1 Einfluß der Lichtverhältnisse

Die Möglichkeit der Fortpflanzungssteuerung durch Lichtprogramme ist insbesondere für große Katzenhaltungen interessant. Bei einer konstanten 12 Stunden Licht-/12 Stunden Dunkelperiode sind die Würfe gleichmäßig über alle Jahreszeiten verteilt. Von einer Katze sind unter diesen Bedingungen durchschnittlich 2,2 Würfe im Jahr zu erwarten. Wird zu einem festgesetzten Zeitpunkt eine größere Anzahl Katzen gleichen Alters gebraucht, bietet sich der Wechsel von Kurz- zum Langtag an. Unter diesen Bedingungen kommt es zum annähernd gleichzeitigen Beginn der nächsten Rolligkeit. Die besten Ergebnisse sind zu erwarten, wenn nach acht Wochen mit einem 9 Stunden-Lichttag die Beleuchtung während eines Monats auf 14 Stunden erhöht wird. Während der Kurztag-Periode bleiben die Katzen sexuell inaktiv, 3 - 4 Wochen nach Steigerung der Lichtdauer tritt bei den meisten der nächste Östrus ein. (HURNI, 1975; HURNI, 1981).

2.2.2 Unterdrückung und Induktion des Östrus durch hormonelle Behandlung

Eine Beeinflussung des Zyklus ist bei einzelnen Tieren oder Katzen in Privathaltung einfacher durch Hormongaben durchzuführen. Eine zeitweise Unterdrückung der Rolligkeit ist durch eine Behandlung mit Megestrolacetat möglich. COLBY und STEIN (1983) setzen es in einer Dosierung von 5 mg täglich bzw. nach Aufhören der Östruserscheinungen wöchentlich ein. Zur Induktion des Östrus erprobten WILDT et al. (1978b) FSH und PMSC in verschiedenen Dosierungen. Am effektivsten waren tägliche Injektionen von 2 mg FSH i.m. bis zum Auftreten von Östruserscheinungen. Nach maximal fünf Tagen sollte die Behandlung abgebrochen werden, da sonst die Gefahr der Bildung von Ovarialzysten besteht. PMSC war wirksam in Form einer einmaligen Gabe von 1000 I.E.

oder als Dauertherapie in einer Dosierung von 100 I.E. an zwei Tagen und sechs weiteren täglichen Injektionen von je 50 I.E. Neben der Bildung von Ovarialzysten kann PMSG auch eine zu frühe, spontane Ovulation auslösen. Letzteres ist auf die im PMSG enthaltene LH-Komponente zurückzuführen (WILDT et al., 1978b). HART und VOITH (1977) gelang es, eine Rolligkeit durch zweimalige Anwendung von je 0,25 mg "estradiol cypionate" (Upjohn) s.c. im Abstand von 48 Stunden zu induzieren. Nach COLBY (1980b) ist auch die i.m. Injektion von 50 µg Östradiolbenzoat erfolgreich.

In beiden Arbeiten wird vor einer möglichen Funktionsstörung des Knochenmarks nach längerer Anwendung von Östrogenen gewarnt. Nach Möglichkeit sollten die erwähnten hormonellen Behandlungen nur an klinisch gesunden Katzen, die älter als ein Jahr sind, durchgeführt werden. Eine separate Haltung der Katze ohne freien Auslauf ist die Voraussetzung für eine erfolgreiche Östrusinduktion.

2.3 Spermagewinnung, -beschaffenheit und -konservierung

2.3.1 Spermagewinnung

2.3.1.1 Spermagewinnung nach Konditionierung des Katers

Eine erfolgreiche Konditionierung setzt voraus, daß der Kater an den Umgang mit Menschen gewöhnt ist und sich in seiner vertrauten Umgebung befindet. Allerdings läßt sich auch unter diesen Bedingungen nicht jeder Kater konditionieren. Ungeeignet sind nervöse, überempfindliche Tiere und solche mit geringer Libido. Die eigentliche Spermagewinnung wird von den einzelnen Autoren in unterschiedlicher Weise durchgeführt.

SOJKA et al. (1970) setzen eine rollige Kätzin als Deckpartner ein. Nach dem Aufsprung des Katers wird eine künstliche Scheide auf den erigierten Penis geschoben und so das Ejakulat gewonnen. Die künstliche Scheide besteht aus einem 2 ml Pipettenball, dessen rundes Ende abgeschnitten und an einem Reagenzröhrchen (3 x 44 mm) befestigt wurde. Beides befindet sich in einer 60 ml Polyäthylen-Flasche. In diese wird + 52 °C heißes Wasser gefüllt, so daß die Innentemperatur der künstlichen Scheide zwischen + 44 und 46 °C liegt. Das gerollte Ende des Pipettenballs wird über die Öffnung der Flasche gezogen und mit Gleitmittel eingerieben. Es dauert etwa zwei Wochen bis der Kater gelernt hat, die künstliche Scheide anzunehmen. SCHLESINGER-PLATH (1984) konnte eine Spermagewinnung beim Kater auch am männlichen Deckpartner bzw. an Katzen im Anöstrus durchführen. Bessere Erfolge als mit der oben beschriebenen künstlichen Scheide erzielte sie mit einer imitierten Vagina. Der Operateur zieht einen sorgfältig gewaschenen und getrockneten Operationshandschuh an und schließt die Hand zur Faust. Wenn der Kater den Nackenbiß ausgeführt hat und Suchbewegungen zeigt, wird ihm in Höhe der Vulva des Deckpartners die aus gekrümmtem Zeigefinger und Handinnenfläche gebildete imitierte Vagina angeboten. Das auf der Hand deponierte Ejakulat wird mit einer Erythrozytenpipette aufgezo-

2.3.1.2 Spermagewinnung durch Elektroejakulation

Die Elektroejakulation wird durchgeführt, wenn eine künstliche Scheide nicht einsetzbar ist. Sie erfordert eine Narkotisierung des Tieres. Der Kater wird auf die Seite gelegt und eine 12 cm lange Sonde mit 1 cm Durchmesser wird mit Gleitmittel eingerieben und rektal 6 - 9 cm eingeführt. Dabei sollten die an der Sonde befindlichen Elektroden ventral liegen. Über die Elektroden lassen sich elektrische Reize übertragen. PLATZ und SEAGER (1978) arbeiten in einem Bereich von 2 - 8 Volt und 5 - 220 mA. Zum Auffangen des Ejakulates dient ein gekürztes Zentrifugenglas, das über den vorverlagerten Penis gehalten wird. Die Spannung der Elektroden wird von 0 Volt ausgehend so lange erhöht, bis der Kater die Hinterbeine streckt und die Krallen zeigt. Diese Spannung wird als Initialspannung bezeichnet. Meist liegt sie zwischen 2 - 4 Volt. 3 Sekunden nach Erreichen der Initialspannung wird die Voltzahl innerhalb einer Sekunde wieder auf 0 geschaltet. 60 Stimulierungen mit je 2 Minuten Pause werden durchgeführt, wobei nach jeweils 15 Stimulierungen die Spannung um 1 Volt erhöht wird. Dieser Vorgang wird dreimal im Abstand von 5 Minuten durchgeführt (PLATZ und SEAGER, 1978).

PINEDA et al. (1984) wenden eine ähnliche Technik an. 40 Stimulierungen bei 2 Volt und 20 - 30 mA folgen 20 Stimulierungen bei 3 Volt und 30 - 40 mA. Mit jeweils 5 Minuten Pause wiederholen sie dieses Vorgehen viermal. Als ein Elektroejakulat wird das Sperma bezeichnet, das während 60 Stimulierungen gewonnen wurde. Die Konsistenz des Ejakulates wird durch die angelegte Spannung beeinflusst. Seminalplasma wird bereits bei 1 Volt abgegeben. Eine weitere Erhöhung der Voltzahl ändert das Volumen nicht, während für die maximale Spermienzahl eine Spannung von mind. 2 Volt erforderlich ist. Bei mehr als 8 Volt besteht die Gefahr, daß das Ejakulat durch Urin verunreinigt wird (PINEDA und DOOLEY, 1984).

2.3.2 Spermabeschaffenheit

Die Angaben verschiedener Autoren für die Spermabeschaffenheit des Katers weichen stark voneinander ab. Vermutlich sind hierfür die verschiedenen Gewinnungsmethoden verantwortlich.

2.3.2.1 Volumen

SOJKA et al. (1970) geben ein Durchschnittsvolumen von 40 μl an. PLATZ et al. (1976) gewannen mit der künstlichen Scheide Ejakulate von 20 - 120 μl , während das Volumen nach Einsatz der Elektroejakulation mit 100 - 500 μl sehr viel höher war. JOHNSTONE (1984) und PINEDA et al. (1984) fanden dagegen nach Elektroejakulation Werte von 43 - 113 μl bzw. 70 - 110 μl . Die niedrigsten Volumina mit 8 - 15 μl wurden von SCHLESINGER-PLATH (1984) gemessen, die mit einer imitierten Vagina arbeitete.

2.3.2.2 Spermienzahl

Bei der Beurteilung von Ejakulaten, die mit der künstlichen Scheide gewonnen wurden, kommen die meisten Autoren hinsichtlich der Spermienzahl zu ähnlichen Ergebnissen. Die Durchschnittswerte werden mit $1,73 \times 10^6$ (SOJKA et al., 1970), $1,46 \times 10^6$ (SCHLESINGER-PLATH, 1984) und $1,2 - 1,5 \times 10^6$ (SCOTT, 1970) Spermien je μl Ejakulat angegeben.

Nach Elektroejakulation zählen PLATZ und SEAGER (1978) 28×10^6 Spermien pro Ejakulat, während PINEDA et al. (1984) und JOHNSTONE (1984) Spermienzahlen von $0,13 - 13,7 \times 10^6$ je Ejakulat fanden. Werden diese Angaben unter Berücksichtigung des Volumens umgerechnet auf Spermien $\times 10^6/\mu\text{l}$, zeigt sich, daß die Elektroejakulate eine sehr viel geringere Dichte haben als von konditionierten Katern gewonnene Ejakulate.

2.3.2.3 Motilität

Der Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien wird von SOJKA et al. (1970) mit durchschnittlich 78 % angegeben. Untersuchungen von PLATZ et al. (1978) ergaben beim Vergleich der künstlichen Scheide mit der Elektroejakulation $82,5 \pm 2,7$ bzw. $70,4 \pm 2,6$ % bewegliche Spermien im Ejakulat. SCHLESINGER-PLATH (1984) ermittelte eine Vorwärtsbeweglichkeit der Spermien von 47,5 %.

2.3.2.4 Morphologie

SCHLESINGER-PLATH (1984) beurteilte die Morphologie der Spermien anhand eines Tuscheausstriches nach einem Schema von LEIDL et al. (1971) und fand 38,9 % anomale Samenzellen. Überwiegend kamen primäre Schwanzdeformationen und Krümlinge vor. Nach Auswertung von nach GIEMSA gefärbten Ausstrichen stellte SOJKA (1980b) 1,6 % Zytoplasmotropfen und 2,1 % Schwanzanomalien fest. SCOTT (1970) gibt 3 - 5 % Schwanzdeformationen und 1 - 3 % Zytoplasmotropfen an. Unter 2 % liegt der Anteil morphologisch anomaler Spermien in den Untersuchungen von PLATZ und SEAGER (1978).

2.3.2.5 Andere Parameter

Der pH-Wert des Katerejakulates liegt in einem Bereich von 7,0 - 8,2. Im Durchschnitt beträgt er 7,4 (SOJKA 1980b) - 7,7 (SCOTT, 1970). In Untersuchungen von GLOVER und WATSON (1985) wurden für die Osmolalität Werte von 320 - 343,5 mOsm/kg gemessen. Der Fruktose-Gehalt im Seminalplasma ist sehr niedrig. NETT und OLSON (1983) nehmen an, daß dies durch das Fehlen von Samenbläschendrüsen zu erklären ist. Die Ejakulation läuft in zwei Phasen ab. Einer spermienfreien Fraktion folgt ein spermienreiches Ejakulat.

Ein Katerspermium ist $59,35 \mu$ lang. Die von CUMMINGS und WOODALL (1985) ermittelten Maße sind in Tabelle 1 angeführt.

Tabelle 1: Angaben zur Größe eines Katerspermiums nach CUMMINGS und WOODALL (1985)

Parameter	Kopf	Mittelstück	Schwanz
Länge (μ)	4,76	8,34	40,25
Breite (μ)	2,56	0,77	

2.3.3 Spermakonservierung

Das Sperma wird möglichst bald nach der Gewinnung verdünnt, um ein Austrocknen der sehr geringen Menge zu vermeiden. Zur Verdünnung sowohl für die Spermauntersuchung als auch für eine Insemination mit Frischsperma ist phys. NaCl-Lösung geeignet (SCOTT, 1970; SOJKA et al., 1970; SCHLESINGER-PLATH, 1984). Eine Flüssigkonservierung bei + 5 °C ist für drei Tage mit einem Tris-Verdünner möglich. Die Motilität sinkt jedoch bereits nach 24 Stunden um 25 % (SCHLESINGER-PLATH, 1984). Über einen längeren Zeitraum lassen sich Befruchtungsfähigkeit und Motilität nur durch eine Tiefgefrierkonservierung erhalten. Untersuchungen hierzu wurden bisher von PLATZ et al. (1978) und SCHLESINGER-PLATH (1984) durchgeführt. Beide Autoren pellettierten das verdünnte Sperma auf Trockeneis und lagerten die Pellets in flüssigem Stickstoff. Sowohl die technische Durchführung als auch der eingesetzte Verdünner waren jedoch unterschiedlich. Da beide Verfahren im Rahmen der vorliegenden Arbeit nachvollzogen wurden, wird auf die Durchführung erst unter Angabe der Methoden eingegangen. Die so konservierten Ejakulate zeigten nach dem Auftauen eine um 10 - 20 % niedrigere Motilität als frisches Sperma. Sie wurden erfolgreich zur Insemination eingesetzt. Erprobt wurde auch das Tiefgefrieren in Pailletten. Der Anteil motiler Spermien lag nach dem Auftauen bei 0 - 25 % und war damit sehr viel geringer als nach dem Pellettieren (SCHLESINGER-PLATH, 1984).

2.4 Insemination

2.4.1 Zyklusdiagnose

Für die Belange einer Insemination ist eine möglichst genaue Kenntnis des Zyklusstandes der Katze erforderlich. Zwei Faktoren lassen sich zur Diagnose heranziehen: die Vaginalzytologie und das Verhalten der Kätzin in Anwesenheit eines Katers.

2.4.1.1 Vaginalzytologie

Während der Follikelphase kommt es unter dem Einfluß steigender Östradiol - 17 β - Konzentration zur Proliferation des Vaginalepithels. Gleichzeitig ist eine zunehmende Ausreifung und Verhornung der oberflächlichen Epithellagen zu beobachten. Menge und Art der Epithelzellen können im Vaginalabstrich beurteilt werden und ermöglichen eine genaue Bestimmung des Zyklusstandes (KLUG, 1969; GÜNZEL et al., 1985). Proben für die zytologische Diagnostik werden durch Vaginalspülung mit einer Tropfpipette oder durch Einführen und Drehen eines angefeuchteten Wattetupfers bzw. Glasstabes entnommen. Zum Spülen und Anfeuchten eignen sich sterile phys. NaCl-Lösung und steriles Wasser. Zum Anfärben des so gewonnenen Materials werden die üblichen Färbungen wie Methylenblau, Giemsa oder Papanicolaou verwendet. GÜNZEL et al. (1985) setzen ebenso wie SCHLESINGER-PLATH (1984) vorgefärbte Objektträger ein (Testsimplen, Fa. Boehringer, Mannheim GmbH).

Folgende Zellen können differenziert werden:

- | | |
|--------------------|---|
| Parabasalzellen: | kleine, rundliche Zellen mit deutlichem Kern |
| Intermediärzellen: | größere, polygonale Zellen mit deutlich
abgesetztem Kern |
| Superficialzellen: | große, polygonale Zellen mit pyknotischem Kern |
| Schollen: | verhornte, kernlose Superficialzellen |

Im Anöstrus kommen vor allem Parabasalzellen und Intermediärzellen vor. Während des Proöstrus steigt der Anteil an Superficialzellen an, im Östrus überwiegen Schollen und Superficialzellen. Parabasalzellen sind nicht vorhanden, Intermediärzellen nur etwa 20 %. Der Metöstrus ist durch zunehmendes Auftreten von Parabasal- und Intermediärzellen gekennzeichnet. Häufig sind auch Leukozyten im Zellbild erkennbar (MOWRER et al., 1975; HERRON, 1977b; MILLS et al., 1979; HAENISCH, 1980; GÜNZEL et al., 1985).

2.4.1.2 Verhaltensbeobachtung

In großen Katzenhaltungen wird oft ein vasktomierter Kater zur Zykluskontrolle eingesetzt. Die Kätzin wird täglich für 15 Minuten zum Kater gebracht und ihre Reaktion beobachtet. Im Anöstrus ignoriert sie den Kater oder greift ihn an. Mit beginnendem Proöstrus rollt sie sich und wird anschniegbarer, duldet den Aufsprung des Katers aber erst im Östrus. Bei sehr scheuen, rangniedrigen Tieren kann dieses Verhalten fehlen (SHILLE et al., 1979a).

2.4.2 Ausführung der Insemination

PLATZ et al. (1978) und SCHLESINGER-PLATH (1984) führen Inseminationen am 2. und 3. Tag des Östrus durch. SCOTT (1970) und SOJKA et al. (1970) geben keinen bestimmten Tag an, sondern inseminieren, wenn der vaginalzytologische Befund und das Verhalten der Kätzin übereinstimmend eine Rolligkeit erkennen lassen.

Zur intravaginalen und -zervikalen Deponierung des Spermas dienen 9 cm lange Knopf- oder Spülkanülen mit einem Kaliber von 0,9 mm. SCHLESINGER-PLATH (1984) verwendete für die intravaginale Besamung eine Leukozytenpipette. Nach PLATZ et al. (1978) wird die Kätzin zur Durchführung der Insemination sediert. Eine Möglichkeit des Besamens ohne Narkose wird von SCHLESINGER-PLATH (1984) beschrieben. Ein Kater soll die rollige Kätzin bespringen. Anstelle des Penis wird eine Leukozytenpipette

eingeführt und das Sperma intravaginal deponiert. Die verschiedenen Inseminationsdosen und -orte sind in Tabelle 2 angeführt.

2.4.2.1 Ovulationsauslösung

Da die Kätzin nicht spontan ovuliert, muß die Ovulation, wenn die natürliche Auslösung durch den Deckakt entfällt, künstlich induziert werden. SCHLESINGER-PLATH (1984) injizierte gleichzeitig mit der ersten Besamung 500 I.E. HCG. PLATZ et al. (1978) gaben am 1. und 2. Tag des Östrus je 250 I.E. HCG i.m. oder ließen die Katze durch einen vasktomierten Kater decken. Eine sehr viel niedrigere Dosierung halten SOJKA et al. (1970) für ausreichend. Am Tag der ersten Insemination werden 50 I.E. HCG verabreicht und mit der 2. Insemination nach 24 Stunden noch einmal 10 I.E. HCG. SCOTT (1970) löste die Ovulation durch eine i.v. Injektion von 20 - 50 I.E. LH aus. Innerhalb von 26 - 27 Stunden nach der Injektion des HCG findet der Follikelsprung statt. Weitere Möglichkeiten der Ovulationsauslösung sind die Injektion von 25 µg LH - RH (CHAKROBORTY et al., 1979) oder die mechanische Reizung der Zervix mit einer Pipette. Letzteres ist allerdings nur in 50 % der Fälle erfolgreich (SHILLE et al., 1979b).

2.4.2.2 Besamungsergebnisse

Inseminationen mit Frischsperma wurden von SOJKA et al. (1970) und SCOTT (1970) durchgeführt. Während SCOTT (1970) keine Angaben über die Anzahl der Inseminationen und der erzielten Trächtigkeiten macht, berichten SOJKA et al. (1970), daß die Konzeptionsrate bei 75 % liegt. Die Zahl der Welpen ist mit 2,7 je Wurf niedriger als nach natürlicher Bedeckung. Bei SCHLESINGER-PLATH (1984) wurden nach der Insemination mit Tiefgefriersperma 2 von 3 Katzen trächtig und bekamen 1 bzw. 4 Welpen. PLATZ et al. (1978) inseminierten ebenfalls Katzen mit Tiefgefriersperma. Von 56 Besamungen führten 6 zu einer Gravidität. Damit lag die Konzeptionsrate bei 10,6 %. Eine Kätzin hatte 4 Junge, während die Welpenzahl in den übrigen Würfen nur 1 oder 2 betrug. 2 der trächtigen Katzen waren in einem durch FSH induzierten Östrus inseminiert

worden. Das von PLATZ et al. (1978) erfolgreich eingesetzte Sperma war teils durch Elektroejakulation, teils mit einer künstlichen Scheide gewonnen worden.

Tabelle 2: Angaben zur Inseminationstechnik verschiedener Autoren

Spermien* ($\times 10^6$)	Volumen (ml)	Ort der Deponierung	Anzahl der Inseminationen	Autor
120 - 300	0,1 - 0,2	intrazervikal	1	Scott, 1970
5	0,1	intravaginal	2	Sojka, 1970
50 - 100	0,1	intravaginal	2	Platz et al., 1978
10 - 15	1,0	intravaginal	2	Schlesinger-
		intrazervikal		Plath, 1984

* Anzahl der Spermien in der Inseminationsdosis

2.5 In vitro-Fertilisation von Oozyten der Katze

Eine In vitro-Fertilisation kann mit follikulären oder tubalen (ovulierten) Oozyten durchgeführt werden. Werden Eizellen, die sich im Germinal Vesicle-Stadium befinden, aus den Follikeln entnommen und kultiviert, setzen sie die Meiose fort und entwickeln sich bis zur Metaphase II (PINCUS und ENZMANN, 1935). Nach Zugabe von Sperma kann es zur Fertilisation kommen. Eine Weiterentwicklung ist allerdings nur unter bestimmten Bedingungen möglich. Dieser Vorgang wurde für verschiedene Säugetierarten nachvollzogen (SCHUETZ, 1974). Informationen über die Kultivierung von follikulären Oozyten der Katze liegen noch nicht vor.

Mehrfach beschrieben wurde die In vitro-Fertilisation an ovulierten Oozyten der Katze. Ausgewachsene, geschlechtsreife Katzen wurden mit 100 - 150 I.E. PMSG behandelt, um eine vermehrte Anbildung von Follikeln zu induzieren. 72 Stunden später wurde durch Injektion von 2,5 mg LH (BOWEN, 1977) oder 50 - 100 I.E. HCG die Ovulation ausgelöst (HAMNER et al., 1970; NIWA et al., 1985). Nach weiteren 28 - 32 Stunden wurden durch Spülung der Eileiter die Oozyten gewonnen. Die folgende Kultivierung der Eizellen wurde in einer Nährlösung durchgeführt, die Nebenhoden- oder Ejakulatsperma in einer Dichte von $1 - 7 \times 10^6$ Spermien je ml enthielt. Zur Gewinnung von Nebenhodensperma wurden bei der Kastration ausgewachsener Kater anfallende Nebenhoden verwendet. BOWEN (1977) legte ein 2 cm langes Teil des Ductus Deferens in Kulturlösung und zerschnitt es. NIWA et al. (1985) spülten Samenleiter und Nebenhodenschwanz mit 0,15 - 0,2 ml eines modifizierten Krebs-Ringer Mediums. HAMNER et al. (1970) gewannen Katerejakulate mit einer künstlichen Scheide und übertrugen das Sperma in den Uterus einer Katze im Östrus. Eine Mindestzeit von 2 Stunden in utero war zur Kapazitation erforderlich. Nach 28stündiger Kultivierung befanden sich die befruchteten Eizellen im Zweizellstadium. In den Untersuchungen von BOWEN (1977) war bei 79 % der Oozyten eine Befruchtung, verbunden mit der Entwicklung zum 2- oder 4-Zellstadium, beobachtet worden. Die Ergebnisse von HAMNER et al. (1970) lagen mit 62 % niedriger.

NIWA et al. (1985) untersuchten, welche Vorgänge in den ersten 5 Stunden nach Zusammengabe von Sperma und Eizellen abliefen. Innerhalb von 30 Minuten wurden die Oozyten penetriert.

Der Spermienkopf war geschwollen, aber noch mit dem Schwanz verbunden. Erkennbar waren der 1. Polkörper und aktivierte Chromosomen der Anaphase II oder frühen Telophase II. Die Bildung von männlichem und weiblichem Vorkern war nach 4 Stunden festzustellen. Zu diesem Zeitpunkt war der 2. Polkörper bereits ausgestoßen worden. Eine Kultivierung von 1 - 5 Stunden führte bei 90 - 100 % der Eizellen zur Befruchtung.

Während die Entwicklung einer Eizelle zum Zwei- oder Mehrzeller problemlos bei Phasenkontrast im Lichtmikroskop sichtbar ist, erfordert die Beurteilung zytologischer Details eine vorherige Fixierung und Färbung. Das Zytoplasma von Oozyten der Katze ist durch einen hohen Gehalt an Lipiden undurchsichtig. Erst nach Fixierung in 25%igem Eisessig-Alkohol für 2 - 3 Tage und Färbung mit Aceto-Orcein (1 %ig) lassen sich einzelne Bestandteile der Eizelle mikroskopisch erkennen.

2.6 Embryotransfer

Zum Embryotransfer bei der Katze liegen bisher kaum Erfahrungen vor. In Untersuchungen von KRAEMER et al. (1980) zeigte sich, daß es möglich ist, Embryonen der Katze 6 Tage post coitum zu gewinnen und auf ein Empfängertier zu übertragen. Gewinnung und Übertragung der Embryonen wurden mittels einer Laparotomie durchgeführt. Die Versuche fanden während natürlicher Zyklen statt, wobei Spender- und Empfängerkatze bis auf einen Tag in ihrem Zyklus synchron waren. Von 17 Katzen konnten insgesamt 47 Embryonen gewonnen werden, die auf 9 Empfänger übertragen wurden. In 4 Fällen wurde eine Trächtigkeit diagnostiziert. Zwei Katzen warfen 1 bzw. 3 gesunde Welpen. Eine Gravidität führte zur Geburt eines toten Welpen und die vierte wurde durch einen unbeobachteten Abort oder eine Fruchtresorption beendet (SCHRIVER und KRAEMER, 1978, zitiert nach KRAEMER et al., 1979; KRAEMER et al., 1980).

3. EIGENE VERSUCHE

3.1 Material und Methoden

3.1.1 Haltung und Fütterung der Katzen

3.1.1.1 Kater

Der Versuch der Spermagewinnung wurde an fünf Katern (1M - 5M) durchgeführt. Drei Kater waren in der Klinik geboren, zwei wurden aus Privathaushalten übernommen. Die Tiergruppe wurde im Dezember 1983, ein halbes Jahr vor Versuchsbeginn, zusammengestellt. Das Alter der Kater zu diesem Zeitpunkt betrug 5 - 8 Monate.

Für die Haltung der Kater standen zwei Räume zur Verfügung. Ein Raum war 17 m² groß, fensterlos und klimatisiert. Die Raumtemperatur betrug konstant + 22 °C. Der Raum wurde von 8.00 - 18.00 Uhr durch zwei Weißlicht-Leuchtstoffröhren mit der Leistung 60 Watt beleuchtet. Ein weiterer 16 m² großer Raum hatte Tageslicht und war durch eine Gitterwand unterteilt. In beiden Räumen befanden sich Schlafkörbe aus Weide, Sitzbretter in verschiedener Höhe an den Wänden und ein Kletterbaum. Zusätzlicher Auslauf war tagsüber auf einem angrenzenden Heuboden von ca. 500 m² gegeben.

Die tägliche Fütterung bestand aus Dosenfutter (Kitekat, Fa. Effem), Trockenfutter (Brekki's, Fa. Effem) und Wasser ad libitum. Zweimal wöchentlich wurden Eintagsküken und Rindfleisch gefüttert.

Alle Tiere wurden regelmäßig entwurmt und einmal jährlich gegen Katzenzeuche und Katzenschnupfen geimpft.

3.1.1.2 Katzen

Von den Katern getrennt wurden ab März 1984 vier Hauskatzen (1W - 4W) von einem halben bis zu zwei Jahren und eine 4 Monate alte Perserkatze (5W) gehalten. Inseminationen wurden noch an drei in Privatbesitz befindlichen Katzen vorgenommen.

Für die Kätzinnen war in einer Tierstallung ein 12 m² großer Raum mit Tageslicht durch Drahtgeflecht abgetrennt worden. Über einen Kletterbaum waren Sitzbretter in verschiedenen Höhen zu erreichen. Ein permanent geöffnetes Fenster bot den Katzen die Möglichkeit, auf einen vergitterten Balkon zu gelangen. Weidenkörbe wurden als Schlaf- und Versteckmöglichkeiten aufgestellt.

Fütterung und Gesundheitsprophylaxe entsprachen der der Kater.

3.1.2 Spermagewinnung

3.1.2.1 Konditionierung der Kater

Zur Durchführung der Spermagewinnung wurden die Kater einzeln nacheinander in einen Raum gebracht. Es wurde darauf geachtet, eine bestimmte Reihenfolge und die gleiche Tageszeit einzuhalten.

Als Deckpartner wurden weibliche Tiere im Östrus, später auch im Anöstrus, eingesetzt. Kater und Katze waren zunächst durch ein Absperrgitter getrennt. Erst nach Kontaktaufnahme durch das Gitter wurden die Tiere zueinander gelassen.

3.1.2.2 Technischer Ablauf der Spermagewinnung

Die Spermagewinnung wurde mit einer imitierten Vagina nach SCHLESINGER-PLATH (1984) durchgeführt.

Hierfür wurden benötigt:

- ein OP-Handschuh, sorgfältig mit Aqua dest. gewaschen und getrocknet
- Vaseline
- eine Erythrozytenpipette mit Schlauchteil
- ein 1,5 ml Eppendorf-Gefäß mit einer abgemessenen Menge Verdünnerflüssigkeit

Alle Geräte wurden bis unmittelbar vor Gebrauch in einem Wärmeschrank bei + 30 °C gelagert. Die eigentliche Spermagewinnung lief dann wie folgt ab:

Mit einer Hand wird der Deckpartner vorsichtig fixiert, während der Kater den Nackenbiß ausführt und übertritt. Wenn der Kater tretelt, d. h. Suchbewegungen zeigt, wird ihm in Höhe der Vulva des Deckpartners die behandschuhte Faust des Operators angeboten. Die aus gekrümmtem Zeigefinger und Handinnenfläche gebildete Öffnung wird vorher mit Vaseline gleitend gemacht. Hat der Kater die imitierte Vagina angenommen, übt der Operator leichten Druck auf den Penis aus. Nach erfolgtem Nachstoß springt der Kater ab. Das in Tropfenform auf der Handinnenfläche deponierte Ejakulat wird in eine Erythrozytenpipette aufgezogen. Um ein Austrocknen der sehr geringen Ejakulatmenge zu vermeiden, wird es sofort mit der Verdünnerflüssigkeit vermischt.

3.1.3 Spermauntersuchung

Das Volumen wurde direkt nach der Spermagewinnung beim Aufziehen in die Erythrozytenpipette gemessen. Alle weiteren Untersuchungen wurden, bis auf die morphologische Beurteilung in Formolsalzlösung nach HANCOCK (1956), am verdünnten Ejakulat durchgeführt.

Der Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien wurde bei + 38 °C mit 400facher Vergrößerung im Phasenkontrast geschätzt.

Mit Hilfe eines Bromphenolblau-Nigrosin-Ausstriches wurde die Morphologie von 300 Spermien ermittelt.

Die Dichte wurde in der Zählkammer nach TÜRK bestimmt.

An drei Ejakulaten jedes Katers wurde die Morphologie der Spermien in Formolsalzlösung nach HANCOCK (1956) beurteilt. Dazu wurden etwa 5 µl unverdünntes Sperma um das 50fache mit der Formolsalzlösung verdünnt. Ein Tropfen von 2 µl dieser Lösung wurde auf einen Objektträger pipettiert und mit einem Deckglas bedeckt. Die Auswertung wurde mit Phasenkontrast bei 1250facher Vergrößerung durchgeführt.

3.1.4 Spermakonservierung

Neben einer Frischspermaverdünnung zum sofortigen Einsatz des Samens wurden drei Möglichkeiten der Tiefgefrierkonservierung erprobt. Die Beurteilung der Verfahren erfolgte anhand der vor und nach der Verdünnung bzw. Tiefgefrierkonservierung geschätzten Vorwärtsbeweglichkeit und der Morphologie der Spermien.

3.1.4.1 Flüssigspermakonservierung

Für Inseminationen mit verdünntem Frischsperma wurde der Tris-Verdünner nach DAVIS et al. (1963) ohne Glycerin-Zusatz verwendet. Aufbewahrt wurde das verdünnte Sperma bei + 37 °C im Wärmeschrank.

Die Zeit zwischen Spermagewinnung und Durchführung der Insemination betrug 20 Minuten.

3.1.4.2 Tiefgefrierkonservierung nach PLATZ et al. (1978)

Das Sperma wurde sofort nach der Gewinnung mit 200 µl steriler NaCl-Lösung und 200 µl Verdünner (siehe 3.1.4.5) bei + 23 °C in einem 1,5 ml Eppendorf-Gefäß vermischt. Dieses Gefäß wurde in ein Wasserbad mit + 23 °C gestellt, das innerhalb von 20 Minuten auf + 5 °C abgekühlt wurde. Am Ende dieser Phase wurden 200 µl Verdünner mit einer Temperatur von + 5 °C hinzugefügt. Nach einer weiteren Äquilibration von 10 Minuten bei + 5 °C wurden 100 µl große Tropfen des verdünnten Spermas mit einer Eppendorf-Pipette in Vertiefungen auf einer CO₂-Trockeneisplatte pipettiert. Nachdem die Spermotropfen bzw. die Pellets eine

festen Konsistenz hatten, wurden sie mit einer vorgekühlten Pinzette in einen Plastikzylinder mit flüssigem Stickstoff überführt. Die weitere Lagerung der Pellets erfolgte in 1,5 ml Eppendorf-Gefäßen in flüssigem Stickstoff.

Zum Auftauen wurde eine Plastiktüte mit 100 µl einer 0,154 molaren NaCl-Lösung je Pellet in ein Wasserbad von + 37 °C gehalten. Nach rascher Zugabe der Pellets wurde die Tüte massiert, um ein möglichst schnelles Auftauen zu erreichen. Das aufgetaute Sperma wurde in graduieren Zentrifugenröhrchen bei 1500 g fünf Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde bis auf 100 µl abpipettiert. Der im Glas verbliebene Rest wurde geschüttelt, um eine gleichmäßige Verteilung der sedimentierten Spermien in der Flüssigkeit zu erreichen.

3.1.4.3 Tiefgefrierkonservierung nach SCHLESINGER-PLATH (1984)

Gleich nach der Gewinnung wurde das Ejakulat mit 0,5 ml eines + 23 °C warmen Tris-Verdünners (siehe 3.1.4.5) vermischt. Nach Schätzung der Motilität und Herstellung von Bromphenolblau-Nigrosin-Ausstrichen wurden wie unter 3.1.4.2 beschrieben 100 µl große Tropfen auf Trockeneis pelletiert.

Die Lagerung der Pellets erfolgte in 1,5 ml Eppendorf-Gefäßen in flüssigem Stickstoff.

Zum Auftauen wurde Auftaulösung nach NAGASE et al. (1966) benutzt. Ein konisch zulaufendes Zentrifugenglas, das 100 µl Auftaulösung enthielt, wurde im Wasserbad auf + 46 °C erwärmt. Nach Zugabe eines Pellets wurde das Glas vorsichtig geschüttelt und sofort nach Auflösung des Pellets aus dem Wasserbad genommen, um eine Schädigung der Spermien durch die hohe Temperatur zu vermeiden.

3.1.4.4 Tiefgefrierkonservierung modifiziert nach SCHLESINGER-PLATH

Das unter 3.1.4.2 beschriebene Verfahren wurde durch eine vor dem Pellettieren eingeschobene Äquilibrationsphase von 30 Minuten bei + 5 °C verändert.

3.1.4.5 Verdünner und Auflöser

Im Verfahren nach PLATZ et al. (1978) wurde folgender Verdünner verwendet:

- 20 Vol. % Eidotter
- 11 Gewichts % Laktose
- 4 Vol. % Glyzerin
- In Aqua dest

Zu 1 ml fertigem Verdünner wurden 1000 µg Streptomycin-Sulfat (Fa. Sigma, München) und 1000 I.E. Penicillin G (Fa. Sigma, München) gegeben.

Für das Verfahren nach SCHLESINGER-PLATH (1984) wurde der Tris-Verdünner nach DAVIS et al. (1963) eingesetzt.

- 6,05 g Tris(hydroxymethyl)-aminomethan
- 3,40 g Zitronensäure-Monohydrat
- 2,50 g Fruktose
- 184,0 ml Aqua dest.
- 16,0 ml Glyzerin

Nach Ansetzen dieser Menge wurden 20 Vol. % Eidotter, 0,20 g Streptomycin (Fa. Sigma, München) und 2×10^5 I.E. Penicillin G (Fa. Sigma, München) hinzugefügt.

Die durch das Verfahren von SCHLESINGER-PLATH (1984) konservierten Ejakulate wurden in Auftaulösung nach NAGASE et al. (1966) aufgetaut. Sie besteht aus gleichen Teilen Magermilch (Uelzena Magermilchpulver instant, Fa. Uelzena Milchwerke, Uelzen Niedersachsen) und Pufferlösung. Die Pufferlösung wird aus folgenden Substanzen hergestellt:

- 1,57 g Natriumzitrat $2H_2O$
- 0,075 g Natriumkarbonat
- 0,085 g Kaliumkarbonat
- 2,7 g Glukose
- 0,1 g P-aminomethylensulfonamid *
- ad 100 ml Aqua dest.

* wurde ersetzt durch Sulfanilamide (Fa. Sigma, München)

Nach Mischung beider Teile wurde der pH des Mediums mit 5,5 %iger Zitronensäure auf 7,0 eingestellt.

Zu 100 ml der Auftaulösung wurden 200.000 I.E. Penicillin G (Fa. Sigma, München) und 0,2 g Dihydrostreptomycin (Fa. Sigma, München) gegeben.

3.1.5 Künstliche Besamung

3.1.5.1 Zyklusdiagnose

Voraussetzung für die Durchführung der künstlichen Besamung ist eine genaue Kenntnis des Zyklusstandes der Kätzin.

Durch den engen Kontakt zur Betreuerin konnten die veränderten Verhaltensweisen der Kätzin im Proöstrus und Östrus gut beobachtet werden, insbesondere durch die Reaktion der Kätzin auf die Anwesenheit eines Katers. Sobald die Kätzin den Eindruck erweckte, daß sie anschniegbarer wurde, häufig den Kopf an Gegenständen rieb und sich rollte, wurde sie täglich für eine Stunde zu den Katern gebracht.

Der Tag, an dem die Katze zum ersten Mal den Aufsprung des Katers duldete, wurde als Tag 1 des Östrus bezeichnet.

3.1.5.2 Vorbereitung der Insemination

Benötigte Instrumente:

- 1 Knopfkanüle (1 x 60 mm, Olive A)
- 1 2 ml Glasspritze

Die Katzen wurden jeweils am 2. und 3. Tag des Östrus besamt. Ebenfalls am 2. Tag wurde eine intramuskuläre Injektion von 500 I.E. HCG (Primogonyl^R, Schering) zur Ovulationsauslösung gegeben.

In einem Fall wurde anstelle von HCG das GnRH-Analog Buserelin (Receptal^R, Fa. Hoechst) eingesetzt, und zwar wurden 12 Stunden vor der ersten Besamung 0,8 µg subcutan appliziert.

Zur Durchführung der Insemination wurde die Katze mit einer intramuskulären Injektion von 0,5 mg/kg Körpergewicht Xylazin und 10 mg/kg Körpergewicht Ketanest narkotisiert und auf der Seite gelagert.

Spritze und Kanüle wurden vor dem Aufziehen des Spermas mehrfach mit + 37 °C warmem Verdünner durchgespült.

3.1.5.3 Technik der Insemination

Die Kanüle wurde intravaginal in cranialer Richtung eingeführt, bis ein leichter Widerstand das Passieren der Zervix anzeigte. Das Sperma wurde intrazervikal deponiert. War es nicht möglich, die Zervix in Seitenlage der Katze zu passieren, wurde die Katze senkrecht mit dem Kopf nach unten gehalten. Um ein Ausfließen des Spermas zu vermeiden, wurde die Katze nach der Besamung mit erhöhtem Becken gelagert.

Variiert wurde sowohl die Anzahl der Spermien als auch das Volumen der Inseminationsdosis.

3.1.6 In vitro-Reifung und -Fertilisation follikulärer Oozyten der Katze

3.1.6.1 Vorbereitung der Versuche

Für alle Versuchsabschnitte wurde ein modifiziertes Krebs-Ringer Medium nach TOYODA und CHANG (1974) verwendet.

Es enthält:

94,6	mM	NaCl	
4,78	mM	KCl	
1,71	mM	CaCl	
1,19	mM	KH ₂ PO ₄	
1,19	mM	MgSO ₄	
25,07	mM	NaHCO ₃	
21,58	mM	Na - Laktat	
0,5	mM	Na - Pyruvat	
5,56	mM	Glukose	
50	µg/ml	Streptomycinsulfat	(Fa. Sigma, München)
75	µg/ml	K-Penicillin	(Fa. Sigma, München)
4	mg/ml	kristallines BSA	(Bovine Serum Albumin, Fa. Sigma, München)

400 µl große Tropfen des Mediums wurden in Kulturschalen (60 x 15 mm, Fa. Falcon) pipettiert und mit sterilisiertem Öl (Siliconöl - DC 200, Fa. Serva) überschichtet. Die so vorbereiteten Kulturschalen wurden für 8 Stunden zur Äquilibration in den Brutschrank gegeben (+ 37 °C, 5 % CO₂ in wasserdampfgesättigter Luft).

3.1.6.2 Gewinnung der Eizellen

Für die Gewinnung der Eizellen wurden bei Kastrationen von Katzen anfallende Ovarien herangezogen. Die Verarbeitung erfolgte spätestens 2 Stunden post operationem. Bis dahin wurden die Ovarien in + 37 °C warmem Medium aufbewahrt. Nach Beurteilung des Funktionszustandes wurden restliche Teile des Mesovariums entfernt. In einer Uhrglasschale mit Medium wurde das Ovar mit einer Nadel mehrfach angestochen und vorsichtig zerrissen. Dabei freiwerdende Eizellen wurden in frisches Medium pipettiert, gezählt und nach morphologischen Kriterien klassifiziert. Oozyten, die von Cumuluszellen umgeben waren und eine Größe von 110 - 130 µ hatten, wurden der Gruppe A zugeteilt. Der Gruppe B wurden Eizellen zugeordnet, die in der Größe der Gruppe A entsprachen, aber keinen Cumulus aufwiesen. Gruppe C umfaßte neben kleinen Oozyten (40 - 50 µ) solche, die degenerative Veränderungen zeigten. Abhängig von der Versuchsanordnung erfolgte dann eine Kultivierung oder die sofortige Fixierung und Färbung zur histologischen Untersuchung.

3.1.6.3 Fixierung und Färbung der Eizellen zur Beurteilung des chromosomalen Status

Die Eizellen wurden durch wiederholtes Ansaugen in eine feine Pipette von restlichen Cumuluszellen befreit, auf einen Objektträger pipettiert und mit einem Deckglas, das auf 4 Paraffin:Vaseline-(1:10)-Füßchen ruhte, angedrückt.

Die folgende Fixierung in Alkohol-Eisessig-Lösung im Verhältnis 3 : 1 dauerte mindestens 48 Stunden. Nach Färbung mit Aceto-Orcein (1 Zlg) konnte der Entwicklungszustand der Eizellen bei 400facher Vergrößerung mit Phasenkontrast beurteilt werden.

3.1.6.4 Versuche zur In vitro-Reifung

Zunächst wurden 43 Eizellen sofort nach der Gewinnung fixiert, um das Reifestadium nicht kultivierter Oozyten beurteilen zu können. Zur In vitro-Reifung wurden die Eizellen in die vorbereiteten Mediumtropfen pipettiert und 26 Stunden im Brutschrank kultiviert. Danach erfolgte die Fixierung.

3.1.6.5 Versuche zur In vitro-Fertilisation

Zur In vitro-Fertilisation wurden follikuläre Oozyten eingesetzt, die wie unter 3.1.6.4 beschrieben, für 26 Stunden kultiviert worden waren. Für die Insemination der gereiften Oozyten wurde frisches und durch Tiefgefrieren konserviertes Nebenhoden- und Ejakulatsperma verwendet.

Unabhängig von der Art bzw. der Vorbehandlung des Samens wurden die Spermien 4 Stunden vor Zugabe zu den Eizellen in mod. Krebs-Ringer Medium inkubiert. Zuvor waren die Spermiedichte und der Anteil der vorwärtsbeweglichen Spermien bestimmt worden. Am Ende dieser Präinkubationsphase wurden so viele Spermien zum Mediumtropfen der Oozyten gegeben, daß eine Dichte von ca. 1×10^6 Spermien/ml vorlag. Nach weiteren 4 - 6 Stunden gemeinsamer Inkubation von Eizellen mit Spermien erfolgte die Fixierung.

Zur Gewinnung des Nebenhodenspermas wurden die bei der Kastration geschlechtsreifer Kater anfallenden Gonaden verwendet. Der Nebenhodenschwanz wurde freipräpariert, in einen der vorbereiteten Mediumtropfen gelegt und angeschnitten. Dadurch verteilte sich das Sperma im Medium. Nach einer Inkubationszeit von 10 Minuten wurden die Gewebeteile entfernt. Sollte das Nebenhodensperma tiefgefroren werden, wurde anstelle des mod. Krebs-Ringer Mediums der Tris-Verdünner nach DAVIS et al. (1963) eingesetzt. Das verdünnte Sperma wurde auf Trockeneis pellettiert und in flüssigem Stickstoff gelagert.

Für Versuche mit frischem Ejakulatsperma wurde Samen des Katers 1M, der den höchsten Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien hatte, gewonnen und mit 500 µl Medium verdünnt. 400 µl davon wurden als Tropfen unter Öl

gegeben und für 4 Stunden bis zur Insemination inkubiert. Das für die In vitro-Fertilisation eingesetzte tiefgefrorene Ejakulatsperma stammte von den Katern 1M und 2M. Es war nach dem Verfahren von SCHLESINGER-PLATH (1984) pellettiert worden. Durch Tiefgefrieren konserviertes Nebenhoden- oder Ejakulatsperma wurde nach dem Auftauen bei 1500 g fünf Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde vollständig abpipettiert und das Sediment mit 500 μ l Krebs-Ringer Medium vermischt. 400 μ l des so verdünnten Spermas wurden daraufhin in einer Kulturschale mit Öl überschichtet.

3.2 Ergebnisse

3.2.1 Konditionierung der Kater

Ein halbes Jahr nach Zusammenstellung der Katergruppe wurde mit den Versuchen zur Spermagewinnung begonnen. Als Deckpartner diente Kätzin 1W, die sich zu diesem Zeitpunkt im Östrus befand. Während der 8 Tage andauernden Rolligkeit konnte von 2 Katern Sperma gewonnen werden. Im Anöstrus duldete die Kätzin den Aufsprung nicht mehr. Das Training wurde für 6 Wochen bis zum Beginn des nächsten Östrus unterbrochen. In der folgenden Raunze war eine regelmäßige Spermagewinnung bei 3 Katern möglich. Als geeignet erwiesen sich 1M, 2M und 3M. 4M versuchte wiederholt, 1W zu bespringen, nahm aber die imitierte Vagina nicht an. 5M zeigte kein Interesse am Deckpartner. Näherte die Kätzin sich ihm, wich er aus oder griff sie an.

Da eine Konditionierung von 4M und 5M nicht gelungen war, wurden die folgenden Versuche nur noch mit 1M, 2M und 3M durchgeführt.

Zum weiteren Training wurde die Perserkatze 5W eingesetzt. Als einzige der Kätzinchen duldete sie den Aufsprung eines Katers auch im Anöstrus. Während 1M bereits nach wenigen Tagen 5W als Deckpartner annahm, war eine regelmäßige Spermagewinnung bei 2M erst nach 2 Monaten möglich. 3M akzeptierte 5W zunächst nur in Anwesenheit einer rolligen Kätzin. Nachdem er gelernt hatte, 5W zu bespringen, war dies nicht mehr erforderlich.

Bei allen drei Katern war 7 Monate nach Versuchsbeginn eine regelmäßige Spermagewinnung durchführbar. Als Deckpartner wurde nur noch 5W eingesetzt. Die Kater waren unterschiedlich belastbar. Während bei 1M die Spermagewinnung im Abstand von 5 Tagen zu den besten Ergebnissen führte, erwies sich für 2M und 3M ein Intervall von 2 Tagen als günstiger. War der Zeitraum von 2 Tagen überschritten worden, wurden die Kater zweimal nacheinander abgesamt. Es hatte sich gezeigt, daß das zweite Ejakulat qualitativ besser war als das erstgewonnene.

Die Kater waren sehr verschieden in ihren Verhaltensweisen während der Spermagewinnung. 1M war sehr unruhig und leicht durch Geräusche oder fremde Personen ablenkbar. Nach intensiver nasaler Kontrolle der Vulva

der Kätzin sprang er auf, führte unter Abgabe von Vorsekret Suchbewegungen aus und stieg wieder ab. Erst wenn er den Deckpartner mehrmals besprungen hatte, nahm er die imitierte Vagina an. Nach 4 - 5 Friktionsbewegungen erfolgte der Nachstoß. Der Kater sprang dann ab. 2M besprang die Kätzin ohne zu zögern und verbiß sich fest in ihrem Nacken. Er nahm die imitierte Vagina sofort an und zeigte nach 2 - 3 Friktionsbewegungen einen heftigen Nachstoß. Wurde die Hand bzw. die imitierte Vagina nicht entfernt, ejakulierte er nach 1,5 - 2 min ein zweites Mal. Häufig war es nötig, den Nackenbiß manuell zu lösen, um ihn zum Absteigen zu bewegen. Auch 3M reagierte sehr schnell auf den Deckpartner. Er zeigte 3 - 4 Friktionsbewegungen und sprang sofort nach dem Nachstoß ab.

3.2.2 Spermabeschaffenheit

Das Ejakulatvolumen schwankte zwischen 8 und 60 μl , in der Mehrzahl der Fälle lag es bei 15 - 30 μl . Für die Spermiedichte wurden Werte von 0,22 - 3,93 Spermien $\times 10^6/\mu\text{l}$ ermittelt. Individuelle Unterschiede konnten nicht festgestellt werden. Die Mittelwerte waren mit 1,69, 1,65 und 1,63 Spermien $\times 10^6$ je μl für alle drei Kater ähnlich.

Der höchste Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien war bei 1M festzustellen. In den besten Ejakulaten betrug er 90 %. Im Durchschnitt lag er bei 74,8 %. 2M hatte meist eine Vorwärtsbeweglichkeit von 55 - 65 %. Die qualitativ schlechtesten Ejakulate wurden von 3M gewonnen. Der Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien schwankte zwischen 10 und 65 %, lag jedoch in den meisten Ejakulaten unter 30 % (Tab. 3).

Die Morphologie der Spermien wurde nach einem Schema von LEIDL et al. (1971) beurteilt. Pathologisch geformte Spermien wurden in primäre und sekundäre Anomalien unterteilt. Auch Spermien mit Zytoplasmotropfen wurden quantitativ erfaßt. Die in Tabelle 4 angeführten Werte wurden aus Bromphenolblau-Nigrosin-Ausstrichen ermittelt. Typisch für die Ejakulate von 1M war ein hoher Anteil an primären Schwanzanomalien während bei 2M viele lose Köpfe auffielen. 3M hatte neben primären und

sekundäre Anomalien auch zahlreiche Spermien mit Zytoplasmotropfen. Die an drei Ejakulaten durchgeführte morphologische Untersuchung nach Fixierung der Spermien in Formolsalzlösung nach HANCOCK (1956) ergab nur zum Teil Resultate, die mit denen gefärbter Ausstriche übereinstimmten (Tab. 5). Der Anteil primärer Anomalien entsprach dem in Bromphenolblau-Nigrosin Ausstrichen ermitteltem. Dagegen war die Zahl der sekundären Anomalien weitaus höher. Der Anteil von Spermien mit anhaftendem Zytoplasmotropfen lag in flüssig fixierten Proben bei 65,8 - 73,4 %, während in den Ausstrichen nur zwischen 0,5 % und 5,4 % gefunden wurden.

3.2.3 Tiefgefrierkonservierung

Kriterien für die Beurteilung der überprüften Verfahren waren der Anteil an vorwärtsbeweglichen Spermien und die Morphologie der Spermien vor und nach der Tiefgefrierkonservierung. Beim Vergleich der verschiedenen Methoden ergaben sich nur geringfügige Differenzen (Tab. 6). In allen drei Verfahren war der Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien nach dem Auftauen niedriger als im Frischejakulat. Die Differenz variierte von 5 - 40 %. Anzuführen ist, daß die Schätzung der Motilität im Verfahren nach PLATZ et al. (1978) durch die dichte Konsistenz des verwendeten Verdünners erschwert wurde. Die Tiefgefrierkonservierung beeinflusste auch die Morphologie der Spermien. Die verschiedenen Methoden führten zu einer Zunahme des Anteils morphologisch anomaler Spermien. Da das aufgetaute Sperma im Verfahren nach PLATZ et al. (1978) vor dem Einsatz zur künstlichen Besamung zentrifugiert wird, wurde hier eine weitere morphologische Untersuchung nach dem Zentrifugieren vorgenommen. Dabei war eine weit höhere Zahl an Krümlingen festzustellen als nach dem Auftauen. Die durchschnittliche Zunahme betrug 11,8 %.

Tabelle 3: Die wichtigsten Samenparameter bei 3 Katern ($\bar{x} \pm s$)

Kater	Ejakulate (n)	Volumen (μl)	Spermiendichte ($\times 10^6/\mu\text{l}$)	VB (%)	Spermienanomalien* (%)
1M	30	$17,8 \pm 6,6$	$1,63 \pm 0,94$	$74,8 \pm 10,0$	$8,0 \pm 3,4$
2M	30	$22,4 \pm 11,1$	$1,65 \pm 0,56$	$60,0 \pm 10,6$	$11,0 \pm 3,6$
3M	30	$29,8 \pm 10,4$	$1,69 \pm 0,54$	$32,2 \pm 18,0$	$13,0 \pm 4,8$
Gesamt	90	$23,4 \pm 10,7$	$1,66 \pm 0,70$	$55,7 \pm 22,2$	$10,5 \pm 4,4$

VB: vorwärtsbewegliche Spermien

* Beurteilung an Bromphenolblau-Nigrosin-Ausstrichen

Tabelle 4: Differenzierung der Spermienanomalien an Bromphenolblau-Nigrosin-Ausstrichen (300 Spermien/Ausstrich ausgewertet; alle Angaben in $\bar{x} \pm s$)

Kater	1M	2M	3M
Ejakulate (n)	30	30	30
prim. Anomalien			
Kopf (a)	1,2 $\pm$ 1,0	0,8 $\pm$ 0,7	0,9 $\pm$ 0,9
Schwanz (b)	3,3 $\pm$ 2,2	1,7 $\pm$ 1,4	5,1 $\pm$ 2,6
Summe (a + b)	4,1 $\pm$ 2,7	2,5 $\pm$ 1,7	5,9 $\pm$ 2,4
sek. Anomalien			
Krümlinge (c)	3,2 $\pm$ 1,7	4,4 $\pm$ 2,4	5,9 $\pm$ 3,4
lose Köpfe (d)	0,6 $\pm$ 0,8	4,1 $\pm$ 2,4	1,3 $\pm$ 1,1
Summe (c + d)	3,9 $\pm$ 2,2	8,5 $\pm$ 3,3	7,1 $\pm$ 3,6
Summe (a+b+c+d)	8,0 $\pm$ 3,4	11,0 $\pm$ 3,6	13,0 $\pm$ 4,8
Spermien mit			
Zytoplasmotropfen	0,5 $\pm$ 0,7	0,6 $\pm$ 0,4	5,4 $\pm$ 5,2

Tabelle 5: Differenzierung der Spermienanomalien nach Fixierung der Ejakulate in Formolsalzlösung nach HANCOCK (1956) - 300 Spermien/Ejakulat ausgewertet; alle Angaben in %; $\bar{x} \pm s$

Kater	1M	2M	3M
Ejakulate (n)	3	3	3
prim. Anomalien			
Kopf (a)	1,0 $\pm$ 1,7	0,7 $\pm$ 1,2	0,4 $\pm$ 0,8
Schwanz (b)	4,0 $\pm$ 1,3	3,3 $\pm$ 0,7	2,4 $\pm$ 2,5
Summe (a+b)	5,0 $\pm$ 2,9	4,0 $\pm$ 0,6	2,9 $\pm$ 2,2
sek. Anomalien			
Krümmlinge (c)	12,7 $\pm$ 11,3	19,3 $\pm$ 6,5	15,8 $\pm$ 15,6
lose Köpfe (d)	0	3,3 $\pm$ 2,4	0,6 $\pm$ 1,0
Summe (c + d)	12,7 $\pm$ 11,3	22,7 $\pm$ 8,4	22,6 $\pm$ 19,4
Summe (a+b+c+d)	17,7 $\pm$ 14,3	26,0 $\pm$ 8,9	25,4 $\pm$ 17,6
Spermien mit			
Zytoplasmotropfen	71,5 $\pm$ 3,4	65,8 $\pm$ 16,6	73,4 $\pm$ 22,9

Tabelle 6: Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien und Spermienanomalien vor und nach Tiefgefrierkonservierung ($\bar{x} \pm s$)

Verfahren	Ejakulate (n)	VB (%)		Spermienanomalien (%)	
		vor TG	nach TG	vor TG	nach TG
PLATZ et al. (1978)	9	58 $\pm$ 16,2	38 $\pm$ 15,0	10 $\pm$ 4,3	14 $\pm$ 8,5
SCHLESINGER- PLATH (1984)	17	55 $\pm$ 17,9	41 $\pm$ 18,5	12 $\pm$ 5,5	20 $\pm$ 9,7
mod. nach SCHLESINGER- PLATH (1984)	10	62 $\pm$ 9,5	50 $\pm$ 11,3	10 $\pm$ 3,0	18 $\pm$ 5,8

VB: vorwärtsbewegliche Spermien

TG: Tiefgefrierkonservierung

3.2.4 Inseminationen

Nach zehn Inseminationen mit Tiefgefriersperma konnte keine Trächtigkeit festgestellt werden. Die verschiedenen Spermienzahlen und Volumina, die zur Besamung eingesetzt wurden, sind in Tabelle 7 angeführt. Das verwendete Sperma war nach dem Verfahren von SCHLESINGER-PLATH (1984) oder der nach SCHLESINGER-PLATH modifizierten Methode konserviert worden. Nachdem die Inseminationen mit Tiefgefriersperma erfolglos geblieben waren, wurden zur Überprüfung der Inseminationstechnik Besamungen mit Frischsperma unter möglichst ähnlichen Bedingungen durchgeführt. Es wurde der gleiche Verdünner, allerdings ohne Glycerinzusatz, eingesetzt. Hinsichtlich der Inseminationsdosis wurde berücksichtigt, daß das konservierte Sperma einen niedrigeren Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien hatte als frische Ejakulate. Die künstlichen Besamungen mit Frischsperma wurden daher mit einer niedrigeren Inseminationsdosis durchgeführt.

Von vier besamten Katzen wurde ein Tier trächtig (Tab. 8). Am 28. Tag der Gravidität waren bei Palpation des Abdomens Fruchtblasen fühlbar. Eine Woche nach Durchführung der Insemination erkrankte die Kätzin an Durchfall, der therapeutisch nicht zu beeinflussen war. Am 46. Tag der Trächtigkeit wurde eine Ovariohysterektomie durchgeführt, nachdem blutiger Vaginalausfluß festgestellt worden war. Der Uterus enthielt vier Feten. Ein Welpen war normal entwickelt. Die anderen hatten eine Scheitelsteißlänge von lediglich 4,5 bzw. 2,5 cm und waren bräunlich-rot verfärbt. Die Plazenten waren stellenweise nekrotisch, ödematisiert und schlecht durchblutet.

3.2.5 Ovulationsauslösung

Es zeigte sich, daß eine Ovulationsauslösung durch HCG die Länge des Östrus beeinflusste. Wurde kein Follikelsprung ausgelöst, weil die Katzen nicht besamt wurden, hielt die Rolligkeit 4 - 8 Tage an. Nach Applikation von HCG war eine Verlängerung des Östrus auf 9 - 12 Tage zu beobachten. Die Durchschnittslänge betrug $10,2 \pm 1,3$ Tage ($n = 12$).

Das bei einer Insemination der Kätzin 1W eingesetzte GnRH-Analog Buserelin beeinflusste die Östrusdauer nicht in dieser Weise. Die Rolligkeit endete bereits nach 5 Tagen. Die gleiche Kätzin war bei zwei Besamungen mit HCG behandelt worden und hatte 9 bzw. 12 Tage Östruserscheinungen gezeigt.

Offenbar war sowohl durch HCG als auch durch Buserelin erfolgreich eine Ovulation ausgelöst worden, da es bei so behandelten, nicht graviden Tieren erst 38 - 55 Tage nach der Insemination zum Beginn der nächsten Rolligkeit kam.

Tabelle 7: Inseminationen mit tiefgefrorenem Sperma: Samenparameter in einzelnen Samenportionen

Paarung Katze/Kater	Volumen (ml)		Spermien ($\times 10^6$)		VB Spermien ($\times 10^6$)	
	KB I	KB II	KB I	KB II	KB I	KB II
1W/2M	0,6	1,0	14	10	7	5
1W/2M	0,4	0,4	14	12	8	6
1W/3M	0,9	1,0	55	100	25	50
2W/2M	1,0	1,0	20	13	10	8
2W/2M	0,4	0,4	24	14	12	10
2W/3M	1,0	1,2	40	25	20	15
3W/1M	1,0	0,6	30	21	15	15
3W/1M	0,4	0,4	19	16	11	8
4W/1M	0,4	0,4	16	14	11	10
6W [*] /1M	1,2	0,8	40	30	20	18

* Katze aus Privathaltung

VB Spermien: Anzahl vorwärtsbeweglicher Spermien

KB I/KB II: 1. und 2. Besamung im Abstand von 24 Stunden.

Tabelle 8: Inseminationen mit Frischsperma: Samenparameter und
Besamungserfolg

Katze/ Kater	Volumen (ml)		Spermien ($\times 10^6$)		VB Spermien ($\times 10^6$)		Gravidität
	KB I	KB II	KB I	KB II	KB I	KB II	
3W /1M	0,1	0,1	10	9	7	6	nein
5W /2M	0,1	0,1	10	10	8	6	nein
7W [*] /1M	0,1	0,2	10	10	7	5	nein
8W [*] /2M	0,2	0,1	10	10	5	7	ja

* Katze aus Privathaltung

VB Spermien: Anzahl vorwärtsbeweglicher Spermien

KB I/KB II: 1. und 2. Besamung im Abstand von 24 Stunden

3.2.6 In vitro-Reifung und -Fertilisation follikulärer Oozyten

3.2.6.1 Eizellgewinnung

Vor der Eizellgewinnung wurde der Funktionszustand der Ovarien beurteilt. Es wurden Follikel und Gelbkörper verschiedener Stadien differenziert. Es zeigte sich, daß die Ovarien junger Katzen in besonderem Maße zur Gewinnung von Oozyten geeignet waren. Von Katzen mit einem Jahr oder jünger konnten durchschnittlich $42 \pm 17,6$ ($n = 22$) Eizellen gewonnen werden, während bei Tieren über einem Jahr die Zahl der Oozyten mit $28 \pm 7,4$ ($n = 14$) sehr viel niedriger war. Beide Altersgruppen wurden unterteilt in Katzen, deren Ovarien Tertiärfollikel oder Corpora lutea aufwiesen, und Katzen, bei denen dies nicht der Fall war. Wie aus den angegebenen Zahlen (Tab. 9) hervorgeht, hatte der funktionelle Status des Ovars offenbar keinen Einfluß auf die Anzahl der gewonnenen Eizellen.

Die Oozyten waren von unterschiedlicher Größe und Qualität. Die bei acht Katzen nach den unter 3.1.6.2 angegebenen Kriterien vorgenommene Klassifizierung ergab, daß von einer Katze durchschnittlich $12 \pm 6,6$ Oozyten der Klasse A (Abb. 3), $12 \pm 8,3$ bzw. $11 \pm 5,6$ Eizellen der Klassen B bzw. C (Abb. 4) gewonnen werden konnten.

3.2.6.2 In vitro-Reifung

Von 43 Eizellen, die sofort nach der Gewinnung fixiert worden waren, befanden sich 35 im Diplotän der Prophase. Dies entspricht einem Anteil von 81 %. In weiteren Versuchen wurden insgesamt 447 Oozyten für 26 bzw. nach Zugabe von Sperma 32 Stunden kultiviert (Tab. 10). Von diesen Eizellen konnten 67 (15 %) in ihrer Chromosomenstruktur keinem Abschnitt der Meiose eindeutig zugeordnet werden. Häufig handelte es sich dabei um Oozyten, die sich unter Bildung mehrerer Kerne geteilt hatten (siehe Abb. 5). In einem Fall konnten drei Chromosomenspindeln

in einer Zelle beobachtet werden. Die Beurteilung ergab weiterhin, daß 205 (46 %) Eizellen einen Ruhekern hatten. 109 (24 %) der ausgewerteten Oozyten befanden sich in der Meta- oder Anaphase I und 66 (15 %) in der Metaphase II, d.h. in der Phase, in der eine Befruchtung stattfinden kann.

Während sich nur 19 % der nicht kultivierten Eizellen aus der Kontrollgruppe in der Meta- oder Anaphase I und Metaphase II befanden, konnten diese Entwicklungsstadien bei insgesamt 39 % der kultivierten Oozyten festgestellt werden. Durch die Kultivierung war offensichtlich bei einem Teil der Eizellen eine Weiterentwicklung ausgelöst worden. Statistisch konnte dies durch einen χ^2 -Test ($p \leq 0,005$) abgesichert werden (WEBER, 1972).

3.2.6.3 In vitro-Fertilisation

Eine erfolgreiche In vitro-Fertilisation gelang in drei Versuchen nach Kultivierung follikulärer Oozyten mit frischem Nebenhodensperma (Tab. 11). Von acht Eizellen, die bis zur Metaphase II gereift waren, wurden 4 befruchtet. In ihnen ließen sich Polkörper, männlicher und weiblicher Vorkern sowie der Spermenschwanz erkennen (Abb. 6).

In weiteren Versuchen, für die Ejakulate oder durch Tiefgefrieren konserviertes Sperma verwendet worden waren, kam es zu keiner Fertilisation (Tab. 11).

Tabelle 9: Einfluß des Funktionszustandes des Ovars bzw. des Alters der Katze (Jahre) auf die Eigewinnungsrate; $\bar{x} \pm s$

Katzen- Alter	Funktionszustand des Ovars		Gesamt
	inaktiv	C. l. /T.*	
≤ 1	n = 13 $43 \pm 10,0$	n = 9 $40 \pm 25,2$	n = 22 $42 \pm 17,6$
> 1	n = 6 $26 \pm 7,9$	n = 8 $29 \pm 7,3$	n = 14 $28 \pm 7,4$
Gesamt	n = 19 $36 \pm 11,4$	n = 17 $34 \pm 19,4$	n = 36

* Corpora lutea oder Tertiärfollikel

Tabelle 10: In vitro-Reifung follikulärer Oozyten der Katze

Parameter	Kontroll-	Kultivierung in Stunden		Summe
	gruppe [*]	26(A)	32(B) ^{**}	A + B
Versuche n	4	5	13	18
Eizellen n	43	86	361	447
nicht zu beurteilen n (%)	0 (0)	2 (2)	65 (18)	67 (15)
Diplotän n (%)	35 (81)	50 (58)	155 (43)	205 (46)
Metaphase I n (%)	6 (14)	25 (29)	84 (23)	109 (24)
Metaphase II n (%)	2 (5)	9 (11)	57 (16)	66 (15)

* Eizellen, die sofort nach der Gewinnung fixiert wurden

** Versuche zur In vitro-Fertilisation

Tabelle 11: In vitro-Fertilisation in Kultur gereifter follikulärer Oozyten der Katze

Sperma	Versuche n	Eizellen n	Metaphase II n (%)	Befruchtet n
Nebenhoden	4	64	8 (13)	4
Ejakulat	3	60	6 (10)	-
Nebenhoden [*]	3	102	18 (18)	-
Ejakulat [*]	3	135	25 (19)	-

* durch Tiefgefrieren konserviertes Sperma



Abb. 3: Follikuläre Oozyten der Katze nach der Gewinnung
 Klasse A (vollständig umgeben von Cumuluszellen)
 Mikroskopische Vergrößerung: Objektiv 10 x Tubus 3,2



Abb. 4: Follikuläre Oozyten der Katze nach der Gewinnung
 Klasse B (kein Cumulus), Klasse C (klein: 40 - 50 μ)
 Mikroskopische Vergrößerung: Objektiv 10 x Tubus 3,2



Abb. 5: Follikuläre Oozyten der Katze nach der Kultivierung
Parthenogenese
Mikroskopische Vergrößerung: Objektiv 16 x Tubus 4

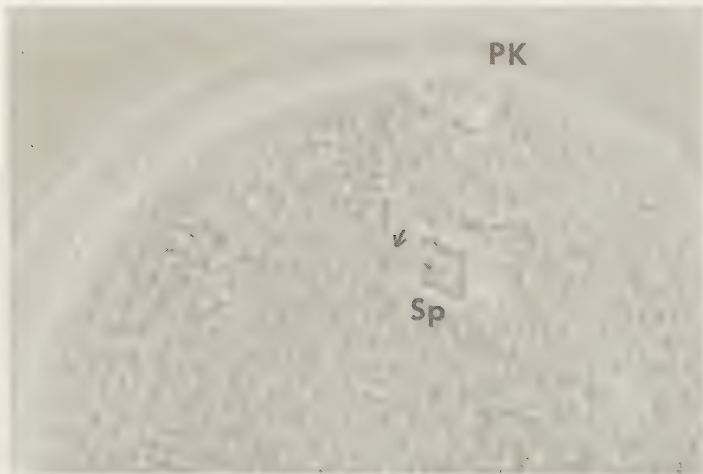


Abb. 6: Follikuläre Oozyten der Katze nach der Kultivierung
Befruchtung: dekondensierter Spermiumkopf (Sp),
Spermien Schwanz (♂), Polkörper (PK)
Mikroskopische Vergrößerung: Objektiv 40 x Tubus 4

4. DISKUSSION

Die künstliche Besamung bei der Katze wurde bisher nur von wenigen Autoren beschrieben. Ziel der vorliegenden Arbeit war es festzustellen, wie weit Spermagewinnung, Spermakonservierung und Inseminationen mit tiefgefrorenem Sperma routinemäßig und mit vertretbarem Aufwand erfolgreich durchzuführen sind. Von besonderem Interesse ist auch die Frage, ob die Befunde einer Spermauntersuchung eine Beurteilung der Zuchttauglichkeit des Katers bzw. der Eignung des Samens zur Insemination zulassen.

Eine Schwierigkeit der Spermagewinnung beim Kater liegt in der Auswahl geeigneter Tiere. In eigenen Untersuchungen lernten drei von fünf Katern, die imitierte Vagina anzunehmen. Dieses Ergebnis entspricht den Erfahrungen anderer Autoren (SOJKA et al., 1970; PLATZ et al., 1976). Des weiteren ist die Konditionierung mit einem erheblichen Zeitaufwand verbunden. Es ist notwendig, einen möglichst engen Kontakt zum Tier aufzubauen, da der Kater die Handhabung für die Spermagewinnung nur durch eine vertraute Person gestattet. Die Dauer der eigentlichen Konditionierung hängt von der Wahl des Deckpartners ab. Eine Spermagewinnung war bei Einsatz einer rolligen Katze innerhalb von 2 Wochen möglich, während es 4 - 6 Monate dauerte bis alle drei Kater eine Katze im Anöstrus als Deckpartner annahmen. Letzteres erwies sich, trotz des höheren Zeitaufwandes zur Konditionierung, für laufende Untersuchungen als günstiger, da die Spermagewinnung unabhängig von der Anwesenheit einer rolligen Katze durchgeführt werden konnte. Im Gegensatz dazu ist für die Samengewinnung beim Kater im Rahmen einer Zuchttauglichkeitsuntersuchung der Einsatz einer Kätzin im Östrus anzuraten. Nachdem der Kater einmal gelernt hatte, den Deckpartner zu bespringen, war die Spermagewinnung als solche problemlos. Die von SCHLESINGER-PLATH (1984) beschriebene imitierte Vagina wurde von den Katern sehr schnell angenommen. Ihr Vorteil ist der sehr geringe technische Aufwand. Hinzu kommt, daß über die Hand ein direkter Kontakt zum Kater bzw. eine manuelle Stimulierung möglich ist. Die Handhabung erfordert allerdings einige Übung, da es leicht zum Abfließen des Spermas vom Handschuh kommen kann. Inwiefern die Beschaffenheit des Ejakulates durch die Spermagewinnung mit der imitierten Vagina beeinflusst wird, ist nicht

genau zu klären. Es zeigte sich, daß die Ergebnisse der eigenen Spermauntersuchungen nicht mit denen von SCHLESINGER-PLATH (1984), die die gleiche Technik anwandte, übereinstimmen. Diese Tatsache sowie die individuell unterschiedliche Samenqualität von Kater 1, 2 und 3M sprechen dafür, daß mit der imitierten Vagina Ejakulate gewonnen werden, die nicht durch typische Artefakte verändert sind.

Allerdings ist eine Beeinflussung nicht auszuschließen, da die Reizauslösung bei der manuellen Spermagewinnung mit der imitierten Vagina stärker variiert als beim Einsatz einer künstlichen Scheide. Vielleicht ist hiermit zu erklären, daß die überprüften Samenparameter nur zum Teil den nach Verwendung einer künstlichen Scheide festgestellten Befunden entsprachen.

Das Durchschnittsvolumen der Ejakulate betrug 18 (1M) bis 30 (3M) μ l. Es war somit deutlich höher als bei SCHLESINGER-PLATH (1984), lag jedoch unter den von SOJKA et al. (1970) oder PLATZ et al. (1978) nach einer Gewinnung mit der künstlichen Scheide gemessenen Werten von durchschnittlich 40 bzw. 30 μ l. Individuell sehr verschieden war der Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien (Tab. 3). Ejakulate mit einer Motilität von 100 %, wie sie von SOJKA et al. (1970) beschrieben wurden, konnten allerdings in keinem Fall festgestellt werden. In den besten Ejakulaten wurden 90 % vorwärtsbeweglicher Spermien geschätzt. Lediglich die Dichte war bei allen drei Katern ähnlich und glich den in der Literatur erwähnten Angaben (Tab. 3). Bei der Beurteilung der Morphologie der Spermien zeigte sich, daß vermutlich auch die Färbung bzw. Fixierung des Samens einen Einfluß auf die Zahl der Spermienanomalien hat. Nach Auswertung von Bromphenolblau-Nigrosin-Ausstrichen lag der Anteil morphologisch anomaler Spermien bei durchschnittlich 10,5 %. Auch hier waren deutliche Unterschiede zwischen den Katern festzustellen (Tab. 4). Neben Schwanzanomalien und Krümlingen wurde auch eine geringe Anzahl an Formveränderungen des Kopfes und losen Köpfen festgestellt. Letztere waren vor allem bei 2M häufig zu finden. Spermien mit Zytoplasmotropfen waren nur bei 3M in höherer Zahl vorhanden. SOJKA (1980b) beurteilte die Morphologie an nach GIEMSA gefärbten Ausstrichen und gibt neben 2,1 % Schwanzanomalien 1,6 % Spermien mit Zytoplasmotropfen an. Im Gegensatz dazu steht die Beobachtung von WILDT et al. (1983), die morphologische Untersuchungen an Katerejakulaten durchführten, welche in 1 %iger Glutaraldehyd-Lösung fixiert

waren. Sie fanden neben 17,3 % morphologisch anomalen Spermien 11,8 % Samenzellen mit Zytoplasmatrophen. Bei über 11 % der Anomalien handelte es sich um Krümmlinge.

Auch in der vorliegenden Arbeit ergab die morphologische Untersuchung an flüssig fixierten Spermien andere Ergebnisse als die Beurteilung der Ausstriche (Tab. 5).

An etwa 70 % der Samenzellen wurden anhaftende Zytoplasmatrophen festgestellt, und die Zahl der Krümmlinge war um das drei- bis vierfache höher als in Bromphenolblau-Nigrosin-Ausstrichen. Möglicherweise erklärt sich der vermehrte Anteil an Spermien mit Zytoplasmatrophen damit, daß während des Ausstreichens ein Teil der Tropfen durch mechanische Einwirkung verloren wird.

Wie aus dem bisher Gesagten hervorgeht, differieren die von verschiedenen Autoren beim Kater beobachteten Spermaparameter erheblich. Es ist daher kaum möglich, sogenannte physiologische Bereiche für bestimmte Samenparameter festzulegen. Nach SOJKA et al. (1970) soll das Sperma eines Katers mit ungestörter Geschlechtsfunktion 60 - 90 % vorwärtsbewegliche Spermien und weniger als 10 % morphologisch anomale Samenzellen enthalten. Abweichungen eines oder beider Parameter nach unten bzw. nach oben müssen jedoch nicht mit einer Beeinträchtigung des Befruchtungsvermögens einhergehen. In Untersuchungen von SCHLESINGER-PLATH (1984) wurden bei einem Kater durchschnittlich 47 % vorwärtsbewegliche Spermien und 39 % Spermienanomalien festgestellt. Dennoch erwies sich der Kater in natürlichen Paarungen als fertil, und seine durch Tiefgefrieren konservierten Ejakulate wurden erfolgreich zur Insemination eingesetzt. An dieser Stelle soll auch erwähnt werden, daß bei zahlreichen Wildkatzenarten der Anteil morphologisch anomaler Spermien außerordentlich hoch ist (HOWARD et al., 1984). Nach einem Bericht von WILDT et al. (1983) scheint die Fertilität hierdurch nicht vermindert zu sein. Spermauntersuchungen an 18 Geparden ergaben einen Anteil von 71 % morphologisch anomaler Formen und eine durchschnittliche Motilität von nur 54 %. Dennoch wurden mit diesen Tiere gute Zuchterfolge erzielt.

Offenbar ist es schwierig von üblicherweise untersuchten Samenparametern, wie der Vorwärtsbeweglichkeit und der Morphologie der Spermien, auf die Zuchttauglichkeit des Katers bzw. die Eignung des Samens zur Insemina-

tion zu schließen. Daher wäre die Möglichkeit interessant, aus dem Penetrationsvermögen der Spermien in vitro mit homologen Oozyten Rückschlüsse zu ziehen. Auf diese Möglichkeit wird bei der Besprechung der Ergebnisse der In vitro-Fertilisation eingegangen werden.

Die Überprüfung verschiedener Möglichkeiten der Tiefgefrierkonservierung ergab keine eindeutigen Unterschiede zwischen den Methoden hinsichtlich der beurteilten Kriterien (Tab. 6). Das Verfahren nach PLATZ et al. (1978) ist zeitaufwendig und kompliziert in der Durchführung. Durch das Zentrifugieren des aufgetauten Spermas kann aber mit einer hohen Spermienzahl in einem geringen Volumen besamt werden. Die Methode nach SCHLESINGER-PLATH (1984) und das nach SCHLESINGER-PLATH (1984) modifizierte Verfahren ermöglichen ein schnelleres und einfacheres Vorgehen. Nachteilig wirkt sich hier die geringe Dichte an Samenzellen in einem relativ hohen Volumen aus.

Erfolgreiche Inseminationen wurden mit sehr verschiedenen Spermienzahlen und Volumina, wie 50 - 100 Mill. Spermien in 0,1 ml (PLATZ et al., 1978) und 10 - 15 Mill. Spermien in 1 ml (SCHLESINGER-PLATH, 1984) durchgeführt. Dagegen war in der vorliegenden Arbeit nach keiner der 10 Inseminationen, für die verschiedene Inseminationsdosen von $10 - 100 \times 10^6$ Spermien und Volumina von 0,4 - 1,2 ml eingesetzt wurden (Tab. 7), eine Trächtigkeit festzustellen. Es bleibt die Frage, aus welchen Gründen die Besamungen nicht zum Erfolg führten. In Betracht zu ziehen wäre eine negative Wirkung des verhältnismäßig hohen Volumens der Inseminationsdosis. Nach Besamungen mit Frischsperma, die mit einer annähernd gleichen Anzahl vorwärtsbeweglicher Spermien, aber einem Volumen von 0,1 - 0,2 ml durchgeführt wurden, konzipierte eine von 4 Katzen.

Ebenso ist es möglich, daß der durch Tiefgefrieren konservierte Samen nicht zur Insemination geeignet war. Auch hier stellt sich wieder das Problem, inwieweit die üblichen Kriterien der Spermauntersuchung beim Kater aussagekräftig sind. Der Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien betrug in den aufgetauten Samenproben mindestens 50 %, dennoch wurde keine der mit diesem Sperma besamten Katzen trächtig.

Eine Verbesserung der Konzeptionsrate ließe sich eventuell durch mehrere Inseminationen im Abstand von wenigen Stunden erreichen. Dieses Vorgehen käme dem natürlichen Paarungsablauf näher. Allerdings würde

eine mehrfache intrazervikale Besamung die Katze durch die wiederholte Narkotisierung stark belasten, daher wäre es in diesem Fall besser, einen Teil des Spermas intravaginal zu deponieren. Das intravaginale Einführen einer Pipette oder Kopfkanüle läßt sich bei der rolligen Katze ohne Sedierung durchführen.

Bei Anwendung von HCG ist zu beachten, daß die Rolligkeit der behandelten Katze bis zu 12 Tagen andauert, obwohl eine Ovulation stattgefunden hat. Dieses Phänomen wird ebenfalls von WILDT et al. (1978a) beschrieben, die nach zweimaliger Injektion von je 250 I.E. HCG eine Östrusdauer von durchschnittlich 10 Tagen ermittelten. Dagegen endete die Paarungsbereitschaft bei Katzen, die zur Ovulationsauslösung nur 50 I.E. HCG erhalten hatten, bereits 55 Stunden später (SOJKA et al., 1970).

Aus den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit wird deutlich, daß die Insemination der Katze mit Tiefgefriersperma noch mit erheblichen Schwierigkeiten verbunden ist. Nachdem die Spermagewinnung, sobald die Anfangsphase der Konditionierung vorüber ist, problemlos abläuft, sind die Schwierigkeiten vor allem in der Konservierung des Samens zu sehen. In Untersuchungen anderer Autoren konnten, wenn auch bisher relativ selten, Graviditäten nach der Besamung mit in flüssigem Stickstoff gelagertem Sperma beobachtet werden. Bei SCHLESINGER-PLATH (1984) konzipierten 2 von 3 Katzen, und PLATZ et al. (1978) erzielten mit 6 Graviditäten aus 56 Besamungen eine Konzeptionsrate von 10,6 %. Ein Einsatz der künstlichen Besamung mit Tiefgefriersperma für den Artenschutz oder die Rassekatzenzucht scheint erst sinnvoll, wenn eine zufriedenstellende Konzeptionsrate erreicht ist.

Aus dem bisher Besprochenen geht hervor, daß für die Beurteilung der Fertilität beim Kater anhand der Untersuchung von Frischsamen nach den üblichen Kriterien einer Spermauntersuchung eine größere Variationsbreite besteht als bei den übrigen Haustieren. Die Prognose für pathologische Veränderungen ist daher schwierig zu stellen. Auch für die Einschätzung einer in flüssigem Stickstoff gelagerten Samenprobe scheinen diese Parameter weniger aussagekräftig zu sein als bei den anderen Spezies. Eine Möglichkeit, eine bessere Kenntnis des Befruchtungsvermögens von Samenzellen zu erhalten, ist durch die In vitro-Fertilisation gegeben,

die praktisch einen homologen Penetrationstest darstellt. Dabei müssen die Spermien so komplexe Vorgänge wie Kapazitation und Akrosomenreaktion *in vitro* vollziehen. Eine Penetration weist also nach, daß diese Prozesse ablaufen können. Deshalb ist der Penetrationstest ein wesentlich umfassenderes Kriterium für das Befruchtungsvermögen als die Vorwärtsbeweglichkeit oder die Morphologie der Spermien.

In der Humanmedizin wird ein solcher Penetrationstest bereits seit einigen Jahren zur Überprüfung der Fertilität von Samenproben eingesetzt. Da hier keine homologen Oozyten zur Verfügung stehen, wird der Test an Zona pellucida-freien Hamster-Eizellen durchgeführt. Mit einer Störung des Befruchtungsvermögens ist zu rechnen, wenn weniger als 15 % der mit dem Spermio kultivierten Hamster-Oozyten penetriert werden (YANAGIMACHI, 1984).

Die *In vitro*-Fertilisation ist jedoch nicht nur in Hinsicht auf eine Spermabeurteilung interessant, sondern ermöglicht vor allem eine genaue Untersuchung des Befruchtungsablaufes und der nachfolgenden Entwicklung der Eizelle.

Bisher wurden Versuche zur *In vitro*-Fertilisation der Katze vor allem mit ovulierten Oozyten durchgeführt. Obgleich auf diese Weise sehr hohe Befruchtungsraten von 80 - 90 % (BOWEN, 1977; NIWA et al., 1985) erzielt werden konnten, sind verschiedene Nachteile in Betracht zu ziehen. Zum einen ist ein operativer Eingriff am Tier erforderlich, der aus tierschützerischen Erwägungen vermieden werden sollte, zum anderen ist die Anzahl der so von einer Katze gewonnenen Eizellen verhältnismäßig niedrig. Es konnte bereits an mehreren Säugetierarten bewiesen werden, daß follikuläre Oozyten sich unter Kulturbedingungen spontan weiterentwickeln (SCHUETZ, 1974). In der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, inwieweit eine Kultivierung follikulärer Oozyten der Katze eine *In vitro*-Reifung auslöst. Da Kastrationen von Katzen zu den häufigsten Eingriffen in der tierärztlichen Praxis gehören, steht ausreichend Material zur Eizellgewinnung zur Verfügung. Abhängig vom Alter des Tieres lassen sich aus den Ovarien einer Katze durchschnittlich 42 bzw. 28 Oozyten freisetzen (Tab. 9). Die Ursache für die niedrigere Eigewinnungsrate bei älteren Katzen dürfte in dem Zugrundegehen zahlreicher Eizellen mit zunehmendem Alter des Tieres zu sehen sein.

Vermutlich hat auch die wiederholte An- und Rückbildung von Funktionsgebilden einen Einfluß auf die Gewebestruktur des Ovars.

Es zeigte sich, daß es auch bei felines Oozyten zu einer Weiterentwicklung während der Kultivierung kommt (Tab. 10). Der Anteil gereifter Eizellen von 39 % ist allerdings geringer als bei anderen Tierarten. In Versuchen von IRITANI et al. (1978) über die In vitro-Reifung von Oozyten des Schweines befanden sich nach der Kultivierung 60 % der Eizellen in der Metaphase II. Beim Rind liegt die Entwicklungsrate bei 46 - 50 % (FUKUI und SAKUMA, 1980).

In weiteren Versuchen konnte nachgewiesen werden, daß eine Fertilisation der in Kultur gereiften Eizellen möglich ist. Ein Vergleich von Samen verschiedener Gewinnungsart und Vorbehandlung ergab, daß nach der Inkubation nur durch frische Nebenhodenspermien Fertilisationen erzielt werden konnten. Dagegen führten unter den beschriebenen Versuchsbedingungen weder Samenzellen aus Ejakulaten noch in flüssigem Stickstoff konservierte Spermien zur Befruchtung. Eine In vitro-Kapazitation der Nebenhodenspermien wird auch von anderen Autoren bestätigt (BOWEN, 1977; NIWA et al., 1985). HAMNER et al. (1970) befaßten sich mit der Kapazitation von Ejakulatsperma. Es scheint, daß hierfür eine Inkubation im Uterus einer rolligen Katze von mindestens zwei Stunden erforderlich ist.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit lassen erkennen, daß follikuläre Oozyten der Katze in Kultur bis zur Metaphase II reifen und befruchtet werden können. Auf diese Weise steht, da die Beschaffung der Ovarien wie oben erwähnt sehr einfach ist, eine große Anzahl von Eizellen für weitere Versuche zur Verfügung. Obgleich das Verfahren, insbesondere in Hinsicht auf den relativ niedrigen Anteil gereifter Eizellen, noch verbessert werden muß, ist belegt, daß grundsätzlich die In vitro-Fertilisation follikulärer Eizellen bei der Katze möglich ist.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde die künstliche Besamung bei der Katze unter besonderer Berücksichtigung der Spermagewinnung, -untersuchung und -konservierung untersucht und auf ihre Einsatzmöglichkeiten hin überprüft.

Weiterhin wurde zur Funktionsprüfung der Spermien die Eignung follikulärer Eizellen der Katze für die In vitro-Fertilisation nach In vitro-Reifung mit Nebenhoden- und Ejakulatsperma überprüft.

Für die Spermagewinnung und künstliche Besamung standen fünf Kater und fünf Katzen zur Verfügung. Drei der Kater ließen sich zur Spermagewinnung mittels einer imitierten Vagina konditionieren. Eine Untersuchung von je 30 Ejakulaten dreier Kater ergab im Durchschnitt ($n = 90$) einen Anteil von 55,7 % vorwärtsbeweglichen Spermien bei einem Sperma-volumen von 23,4 μl und einer Spermiedichte von 1,66 Spermien $\times 10^6$ je μl . Der Anteil morphologisch anomaler Spermien lag bei 10,5 %. Morphologische Untersuchungen, die an Ejakulaten durchgeführt wurden, die in Formolsalzlösung fixiert waren, ergaben 12 - 19 % Krümmlinge und über 65 % Spermienzellen mit Zytoplasmotropfen, während bei der Beurteilung von Bromphenolblau-Nigrosin-Ausstrichen nur 3 - 6 % Krümmlinge und nicht mehr als 5 % Spermien mit Zytoplasmotropfen gefunden wurden.

Es wurden einige Verfahren zur Konservierung von Katersperma überprüft. Tiefgefriersperma wurde für 10 Inseminationen in unterschiedlichen Spermienzahlen und Volumina ($10 - 100 \times 10^6$ Spermien in 0,4 - 1,2 ml) eingesetzt. Eine Trächtigkeit konnte nicht festgestellt werden. Dagegen konzipierte eine von vier Katzen, die mit Frischsperma besamt worden waren.

In 18 Versuchen zur In vitro-Reifung und In vitro-Fertilisation wurden 447 Oozyten für 26 oder 32 Stunden in modifiziertem Krebs-Ringer Medium kultiviert. 205 Eizellen befanden sich im Diplotän der Prophase, 109 in der Meta- oder Anaphase I und 66 in der Metaphase II. Von 43 Oozyten, die sofort nach der Gewinnung fixiert worden waren, zeigten 35 einen Ruhkern, 6 waren in der Meta- oder Anaphase I und 2 in der Metaphase II. Zur In vitro-Fertilisation von 361 Oozyten wurden sowohl frische als auch tiefgefrorene Nebenhoden- und Ejakulatspermien eingesetzt. In drei Versuchen wurden von insgesamt acht zur Metaphase II gereiften Eizellen

vier durch frische Nebenhodenspermien befruchtet (männl. und weibl. Vorkern, Spermiumschwanz und Polkörper). Nach Zugabe von Ejakulatspermien oder Samenzellen nach Tiefgefrierkonservierung konnte keine Fertilisation festgestellt werden.

Es zeigte sich, daß eine Spermagewinnung beim Kater mit geeigneten Tieren, wenn auch anfänglich mit hohem Zeitaufwand, problemlos durchgeführt werden kann.

Nach den Ergebnissen der eigenen Untersuchungen ist, wenn auch nur bei einem Teil der kultivierten Eizellen, eine In vitro-Reifung und -Fertilisation follikulärer Oozyten der Katze möglich.

Damit sind Voraussetzungen geschaffen, in weiteren Versuchen die noch vorliegenden Probleme bei der künstlichen Besamung mit Tiefgefriersperma zu bearbeiten, ohne auf Befruchtungsversuche in vivo zurückgreifen zu müssen.

6. SUMMARY

Artificial insemination and in-vitro fertilization in the cat

The artificial insemination of the cat with special reference to semen collection, examination and conservation was studied. The possibilities of its practical application were also examined.

Furthermore to test sperm function the suitability of follicular oocytes of the cat for the in-vitro fertilization after in-vitro maturation with epididymal and ejaculated spermatozoa was examined.

Five male and five female cats were at disposal for the semen collection and artificial insemination. By means of an imitated vagina three male cats could be conditioned to semen collection. The evaluation of 30 ejaculates of each of three male cats showed on an average ($n = 90$) a percentage of 55,7 % progressing sperm with a sperm volume of 23,4 μ l and a density of $1,66 \times 10^6$ sperm/ μ l. The percentage of aberrant spermatozoal forms was 10,5 %. Morphological examination of spermatozoa fixed in formol-saline solution showed 12 - 19 % bent tails and more than 65 % sperm with cytoplasmic droplets. Whereas the study of Brom-phenolblue-Nigrosin stained ejaculates showed only 3 - 6 % bent tails and no more than 5 % sperm with cytoplasmic droplets.

Different methods for the conservation of male cat semen were tested. Deep-frozen semen was used for 10 inseminations of different sperm numbers and volumes ($10 - 100 \times 10^6$ spermatozoa in 0,4 - 1,2 ml). No pregnancy occurred. On the other hand one of four cats inseminated with fresh semen conceived.

In 18 experiments for the in-vitro maturation and fertilization 447 oocytes were cultivated for 26 or 32 hours respectively in modified Krebs-Ringer solution. 205 oocytes were in the germinal vesicle-stage, 109 in the meta- or anaphase I and 66 in the metaphase II. 35 of 43 oocytes fixed immediately after having been gained, contained intact germinal vesicles, 6 were in the meta- or anaphase I and 2 in the metaphase II.

For in-vitro fertilization 361 oocytes were used. The insemination was carried out with fresh and with deep-frozen epididymal and ejaculated spermatozoa. In three experiments four out of eight up to metaphase II matured oocytes were fertilized with spermatozoa recovered from the epididymis (male and female pronucleus, sperm tail and polar body). After adding ejaculated sperm or sperm after freeze conservation no fertilization could be proved.

Semen collection of the male cat could unproblematically be practiced with suitable animals although at first much time is required.

This study shows that although only with part of the cultivated oocytes an in-vitro maturation and in-vitro fertilization of follicular oocytes of the cat to be possible.

Herewith conditions are set for further studies of the present problems of artificial insemination with deep-frozen semen, without being depended on application of in-vivo insemination.

7. LITERATURVERZEICHNIS

AMSELGRUBER, W. (1982):

Licht- und Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Oogenese
der Katze (*Felis catus*)

Vet. med. Diss., München

ARONSON, L.R. and M.L. COOPER (1966):

Seasonal variation in mating behaviour in cats after
desensitization of glans penis

Science 152, 226 - 230

BEAVER, B.V. (1977):

Mating behaviour in the cat

Vet. Clin. N. Am. 7, 729 - 733

BOWEN, R.A. (1977):

Fertilization in vitro of feline ova by spermatozoa from the
ductus deferens

Biol. Reprod. 17, 144 - 147

BURKE, T.J. (1976)

Feline reproduction

Vet. Clin. N. Am. 6, 317 - 331

CHAKRABORTY, P.K., D.E. WILDT and S.W.J. SEAGER (1979):

Serum luteinizing hormone and ovulatory response to luteinizing hormone -
releasing hormone in the estrous and anestrus domestic cat

Lab. Anim. Sci. 29, 338 - 344

CHRISTIANSEN, J. (1984):

Reproduction in the cat

In: Reproduction in the dog & cat, Christiansen, J. (ed.),
225 - 295, Baillière Tindall, London, Philadelphia, Toronto

COLBY, E.D. (1980a):

The estrous cycle and pregnancy

In: Current therapy in theriogenology,

Morrow, D. A. (ed.), 832 - 839, W. B. Saunders, London,

Philadelphia, Toronto

COLBY, E.D. (1980b):

Suppression/Induction of estrous in cats

In: Current therapy in theriogenology,

Morrow, D. A. (ed.), 861 - 865, W. B. Saunders, London,

Philadelphia, Toronto

COLBY, E.D. and B.S. STEIN (1983):

The reproductive system

In: Feline medicine

Pratt, P.W. (ed.), 511 - 552, American Veterinary Publications

Inc. Santa Barbara, California

CONCANNON, P., B. HODGSON and D. LEIN (1980):

Reflex LH release in estrous cats following single and multiple copulations

Biol. Reprod. 23, 111 - 117

CUMMINGS, J.M. and P.F. WOODALL (1985):

On mammalian sperm dimensions

J. Reprod. Fert. 75, 153 - 175

DAVIS, I.S., R.W. BRATTON and R.H. FOOTE (1963):

Livability of bovine spermatozoa at 5°C in tris - buffered and citrate buffered yolk glycerol extenders

J. Dairy Sci. 46, 57 - 60

FUKUI, Y. and Y. SAKUMA (1980):

Maturation of bovine oocytes cultured in vitro: Relation to ovarian activity, follicular size and the presence or absence of cumulus cells

Biol. Reprod. 22, 669 - 673

GLOVER, T.E. and P.F. WATSON (1985)

The effect of buffer osmolality on the survival of cat
(*Felis catus*) spermatozoa at 5°C

Theriogenology 24, 449 - 456

GREULICH, W. W. (1934):

Artificially induced ovulation in the cat (*Felis domestica*)

Anat. Rec. 58, 217 - 223

GÜNZEL, A.R., C. KLUG - SIMON und I. PEUKERT - ADAM (1985):

Zum Fortpflanzungsgeschehen der Katze - korrespondierende
ovarielle und vaginalzytologische Befunde

Prakt. Tierarzt 9, 727 - 735

HAENISCH, V. (1980):

Vaginalzytologische Untersuchungen an der Hauskatze (*Felis
domestica*) unter besonderer Berücksichtigung der Abgrenzung von
anovulatorischem und gravidem Zyklus

Vet. med. Diss., Hannover

HAMNER, C.E., L.L. JENNINGS and N.J. SOJKA (1970):

Cat (*Felis catus* L.) spermatozoa require capacitation

J. Reprod. Fert. 23, 477 - 480

HANCOCK, J.L. (1956):

The morphology of boar spermatozoa

J. R. Micr. Soc. 76, 84

HART, B.L. and VOITH, V.L. (1977):

Feline behaviour

Feline practice 7, 9 - 12

HERRON, M.A. (1977a):

Feline reproduction

Vet. Clin. N. Am. 7, 715 - 722

HERRON, M.A. (1977b):

Feline vaginal cytologic examination

Feline practice 7, 36 - 39

HERRON, M.A. and SIS, R.F. (1974):

Ovum transport in the cat and the effect of estrogen administration

Am. J. Vet. Res. 35, 1277 - 1279

HOWARD, J. G., M. BUSH, L.L. HALL and D.E. WILDT (1984):

Morphological abnormalities in spermatozoa of 28 species of non-domestic felids

Proc. Xth Int. Cong. Anim. Reprod. Insem., Illinois, USA, 2, 57

HUNTER BANKS, D. and STABENFELDT, G. (1982):

Luteinizing hormone release in the cat in response to coitus on consecutive days of estrus

Biol. Reprod. 26, 603 - 611

HURNI, H. (1975):

Einfluß der Tageslänge auf die jahreszeitliche Verteilung der Würfe in einer Katzenzucht

Z. Versuchstierk. 17, 121 - 128

HURNI, H. (1981):

Daylength and breeding in the domestic cat

Laboratory Animals 15, 229 - 233

IRITANI, A., K. NIWA and H. IMAI (1978):

Sperm penetration in vitro of pig follicular oocytes matured in culture

J. Reprod. Fert. 54, 379 - 383

JEMMET, J.E. and J.M. EVANS (1977):

A survey of sexual behaviour and reproduction of female cats

J. small Anim. Pract. 18, 31 - 37

JOHNSON, L.M. and V.L. GAY (1981):

Luteinizing hormone in the cat II: Mating induced secretion
Endocrinology 109, 247 - 252

JOHNSTON, S.D. (1977):

Reproductive endocrinology of the female cat
Minnesota Veterinarian 17, 7 - 8

JOHNSTON, S.D. (1984):

Clinical management of feline reproduction
AHA's 51st Annual Meeting Proceedings, 419 - 421

JOHNSTONE, I. (1984):

Electroejakulation in the domestic cat
Aust. vet. J. 61, 155 - 158

KLUG, E. (1969):

Fortpflanzung der Hauskatze (*Felis domestica*) unter besonderer
Berücksichtigung der instrumentellen Samenübertragung
- eine Literaturstudie -
Vet. med. Diss., Hannover

KRAEMER, D.C., G.M. KINNEY and M.D. SCHRIVER (1980):

Embryo transfer in the domestic canine and feline
Arch. Androl. 5, 111

LEIDL, W., W. SCHEFELS, R. STOLLA und E. METZGER (1971):

Differenzierung und Befruchtungsvermögen pathologischer Spermien
Dtsch tierärztl. Wschr. 78, 129 - 134

LEYHAUSEN, P. (1979):

Katzen, eine Verhaltenskunde
Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg

LÖFSTEDT, R.M. (1982):

The estrous cycle of the domestic cat

Compendium on Continuing Education for the Practicing
Veterinarian 4, 52 - 58

MICHAEL, R.P. (1961):

Observations upon the sexual behaviour of the domestic cat
(*Felis catus* L) under laboratory conditions

Behaviour 18, 1 - 24

MILLS, J.N., V.E. VALLI and J.H. LUMSDEN (1979):

Cyclical changes of vaginal cytology in the domestic cat

Can. Vet. J. 20, 95 - 101

MOWRE, R.T., P.A. CONTI and C.F. ROSSOW (1975):

Vaginal cytology - an approach to improvement of cat breeding

Vet. med. small anim. clin. 70, 691 - 696

NAGASE, H., S. SOEJIMA, T. TOMIZUKA, H. OSHIDA, T. MIKAWA,

Y. SAGARA, S. HOSHI and T. NIWA (1966):

Studies on the freezing of stallion semen II. Factors affecting
survival rates of stallion spermatozoa after freezing and
thawing and results of a fertility trial

Jap. J. Animal Reprod. 12, 52

NETT, T.M. and P.N.S. OLSON (1983):

Reproductive physiology of dogs and cats

in: Textbook of Veterinary Internal Medicine, 2nd ed.

S.J. Ettinger (ed.), 1698 - 1710, W. B. SAUNDERS, Philadelphia,
London, Toronto

NIWA, K., K. OHARA, Y. HOSOI and A. IRITANI (1985):

Early events of in - vitro fertilisation of cat eggs by
epididymal spermatozoa

J. Reprod. Fert. 74, 657 - 660

OLSON, P.N., P.W. HUSTED, T.A. ALLEN and T.M. NETT (1984):
Reproductive endocrinology and physiology of the bitch and queen
Vet. Clin. North Am. (Small anim. Pract.) 14, 927 - 964

PAAPE, S.R., V.M. SHILLE, H. SETO and G.H. STABENFELDT (1975):
Luteal activity in the pseudopregnant cat
Biol. Reprod. 13, 470 - 474

PINCUS, G. and E.V. ENZMANN (1935):
The comparative behaviour of mammalian eggs in vivo and in vitro
I. The activation of ovarian eggs
J. Exp. Med. 62, 665 - 675

PINEDA, M.H. and M.P. DOOLEY (1984):
Effect of voltage and order of voltage application on seminal
characteristics of electroejaculates of the domestic cat
Am. J. Vet. Res. 45, 1520 - 1525

PINEDA, M.H., M.P. DOOLEY and P.A. MARTIN (1984):
Long term study on the effects of electroejaculation on seminal
characteristics of the domestic cat
Am. J. Vet. Res. 45, 1038 - 1041

PLATZ, C., T. FOLLIS, N. DEMOREST and S. SEAGER (1976):
Semen collection, freezing and insemination in the domestic cat
Proc. VIIIth Int. Cong. Anim. Reprod. Insem., Cracow, Poland, 4
1053 - 1056

PLATZ, C.C. and S.W.J. SEAGER (1978):
Semen collection by electroejaculation in the domestic cat
J. Am. Vet. Med. Assoc. 173, 1353 - 1355

PLATZ, C.C., D.E. WILDT and S.W.J. SEAGER (1978):
Pregnancy in the domestic cat after artificial insemination with
previously frozen spermatozoa
J. Reprod. Fert. 52, 279 - 282

RÜSSE, M. (1983):

Fortpflanzungsstörungen bei Hund und Katze: Weibliche Katze

In: Fortpflanzungsstörungen bei den Haustieren, 6. Aufl.

Schaetz, F. und W. Leidl, (Hrsg.), 375 - 376, Enke, Stuttgart

RÜSSE, M. und B. KOCKS (1979):

Anwendung der Hormone bei Kleintieren

Prakt. Tierarzt 7, 592 - 601

SCHLESINGER-PLATH, B. (1984)

Zur Spermagewinnung, Spermauntersuchung und künstlichen Besamung
bei der Katze

Vet. med. Dis., München

SCHMIDT, P.M., P.K. CHAKRABORTY and D.E. WILDT (1983):

Ovarian activity, circulating hormones and sexual behaviour in
the cat II. Relationships during pregnancy, parturition,
lactation and the postpartum estrus

Biol. Reprod. 28, 657 - 671

SCHRIVER, M.D. and D.C. KRAEMER (1978) zitiert nach: KRAEMER,

D.C., B.L. FLOW, M.D. SCHRIVER, G.M. KINNEY and W. PENNYCOOK

(1979):

Embryo transfer in the nonhuman primate, feline and canine

Theriogenology 11, 51 - 62

SCHUETZ, A.W. (1974):

Role of hormones in oocyte maturation

Biol. Reprod. 10, 150 - 178

SCOTT, P.P. (1970):

Cats

In: Reproduction and breeding techniques for laboratory animals

Hafez, E.S.F. (ed.), Lea & Febinger, Philadelphia

SCOTT, P.P. and M.A. LLOYD - JACOB (1959):

Reduction in the anestrus period of laboratory cats by increased illumination

Nature 184, 2022

SHILLE; V.M., K.E. LUNDSTRÖM and G.H. STABENFELDT (1979a):

Follicular function in the domestic cat as determined by estradiol - 17 β concentrations in plasma: Relation to estrous behaviour and cornification of exfoliated vaginal epithelium

Biol. Reprod. 21, 953 - 963

SHILLE, V.M., C. MUNRO and G.H. STABENFELDT (1979b):

The release of LH in the cat through copulatory, mechanical and pharmacological means

Biol. Reprod. 20 (Suppl.1) 135A, Abstr.

SHILLE, V.M., C. MUNRO, S.W. FARMER, H. PAPKOFF and G.H.

STABENFELDT (1983):

Ovarian and endocrine responses in the cat after coitus

J. Reprod. Fert. 68, 29 - 39

SOJKA, N.J., L.L. JENNINGS and C.E. HAMNER (1970):

Artificial insemination in the cat (*Felis catus* L.)

Lab. Anim. Care 20, 198 - 204

SOJKA, N.J. (1980a):

The male reproductive system

In: Current therapy in theriogenology

Morrow, D.A. (ed.), 844 - 845, W.B. Saunders, Philadelphia, London, Toronto

SOJKA, N.J. (1980b):

Feline semen collection, evaluation and artificial insemination

In: Current therapy in theriogenology

Morrow, D.A. (ed.), 848 - 850, W.B. Saunders, Philadelphia, London, Toronto

STABENFELDT, G.H. and V.M. SHILLE (1977):

Reproduction in the dog and cat

In: Reproduction in domestic animals

Cole, H.H. and P.T. Cupps (eds.), 499 - 527, Academic Press,
New York, San Francisco, London

STEIN, B.S. (1975):

The genital system

In: Feline Medicine and Surgery, 2nd ed.

E. J. CATCOTT (ed.), 303 - 354, American Veterinary
Publications, Santa Barbara, California

STRASSER, H., R. BRUNK und C. BAEDER (1971):

Untersuchungen zum Sexualzyklus der Katze

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 13, 253 - 254

TOYODA, Y. and M.C. CHANG (1974):

Fertilisation of rat eggs in vitro by epididymal spermatozoa and
the development of eggs following transfer

J. Reprod. Fert. 36, 9 - 22

VERHAGE, H.G., N.B. BEAMER and R.M. BRENNER (1976):

Plasma levels of estradiol and progesterone in the cat during
polyestrus, pregnancy and pseudopregnancy

Biol. Reprod. 14, 579 - 585

VOITH, V.L. (1980):

Female reproductive behaviour

In: Current therapy in theriogenology

Morrow, D.A. (Ed.), 839 - 843, W.B. Saunders, Philadelphia,
London, Toronto

WEBER, E. (1972):

Grundriß der biologischen Statistik

Gustav Fischer Verlag, Stuttgart

- WILDT, D.E., S.C. GUTHRIE, and S.W.J. SEAGER (1978a):
Ovarian and behavioral cyclicity of the laboratory maintained cat
Horm. Behav. 10, 251 - 257
- WILDT, D.E., G.M. KINNEY and S.W.J. SEAGER (1978b):
Gonadotropin induced reproductive cyclicity in the domestic cat
Lab. Anim. Sci. 28, 301 - 307
- WILDT, D.E., S.W.J. SEAGER and P.K. CHAKRABORTY (1980):
Effect of copulatory stimuli on incidence of ovulation and on serum luteinizing hormone in the cat
Endocrinology 107, 1212 - 1217
- WILDT, D.E., S.Y.W. CHAN, S.W.J. SEAGER and P.K. CHAKRABORTY (1981):
Ovarian activity, circulating hormones and sexual behaviour in the cat. I Relationships during the coitus - induced luteal phase and the estrous period without mating
Biol. Reprod. 25, 15 - 28
- WILDT, D.E., M. BUSH, J.G. HOWARD, S.J. O'BRIEN, D. MELTZER, A. van DYK, H. EBEDES and D.J. BRAND (1983):
Unique seminal quality in the South African cheetah and a comparative evaluation in the domestic cat
Biol. Reprod. 29, 1019 - 1025
- WINIWARTER, H. von et G. SAINMONT (1909):
Nouvelle recherche sur L'ovogenèse et l'organogenèse de L'ovaire des mammifères (chat)
Arch. Biol. 24, 1-142; 165-276
- YANAGIMACHI, R. (1984)
Zona-free hamster eggs:
Their use in assessing fertilizing capacity and examining chromosomes of human spermatozoa
Gamete Res. 10, 187 - 232

Herrn Prof. Dr. W. Leidl möchte ich herzlich danken für die Überlassung des Themas und für die jederzeit und großzügig gewährte Hilfe.

Allen Mitarbeitern und Doktoranden der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik, die mich bei der Anfertigung der vorliegenden Arbeit unterstützten, sei an dieser Stelle herzlich gedankt.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. J. Braun für wertvolle Anregungen und praktische Hinweise.

9

Lebenslauf

Am 5. November 1958 wurde ich als Tochter des Industriekaufmanns Fritz-Otto Lürssen und seiner Ehefrau, Dr. med. Elisabeth, geb. Diemer, in Bremen geboren.

Von 1965 bis 1968 besuchte ich die Grundschule in Bremen-Grohn, anschließend das Gerhard-Rohlf's-Gymnasium in Bremen-Vegesack. Dort legte ich am 2. Mai 1977 die Reifeprüfung ab.

Zum Wintersemester 1978/79 begann ich an der Ludwig-Maximilians-Universität in München das Studium der Tiermedizin, das ich im März 1984 mit dem Staatsexamen abschloß.

Von März 1984 bis März 1986 war ich an der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität mit der Anfertigung der vorliegenden Arbeit beschäftigt.

